

PATENT COOPERATION TREATY

PCT

NOTIFICATION OF ELECTION

(PCT Rule 61.2)

From the INTERNATIONAL BUREAU

To:

Commissioner
US Department of Commerce
United States Patent and Trademark
Office, PCT
2011 South Clark Place Room
CP2/5C24
Arlington, VA 22202
ETATS-UNIS D'AMERIQUE
in its capacity as elected Office

Date of mailing (day/month/year) 16 August 2001 (16.08.01)	
International application No. PCT/EP00/09594	Applicant's or agent's file reference
International filing date (day/month/year) 29 September 2000 (29.09.00)	Priority date (day/month/year) 30 September 1999 (30.09.99)
Applicant PAHL, Heike	

1. The designated Office is hereby notified of its election made:

☒ In the demand filed with the International Preliminary Examining Authority on:
27 March 2001 (27.03.01)

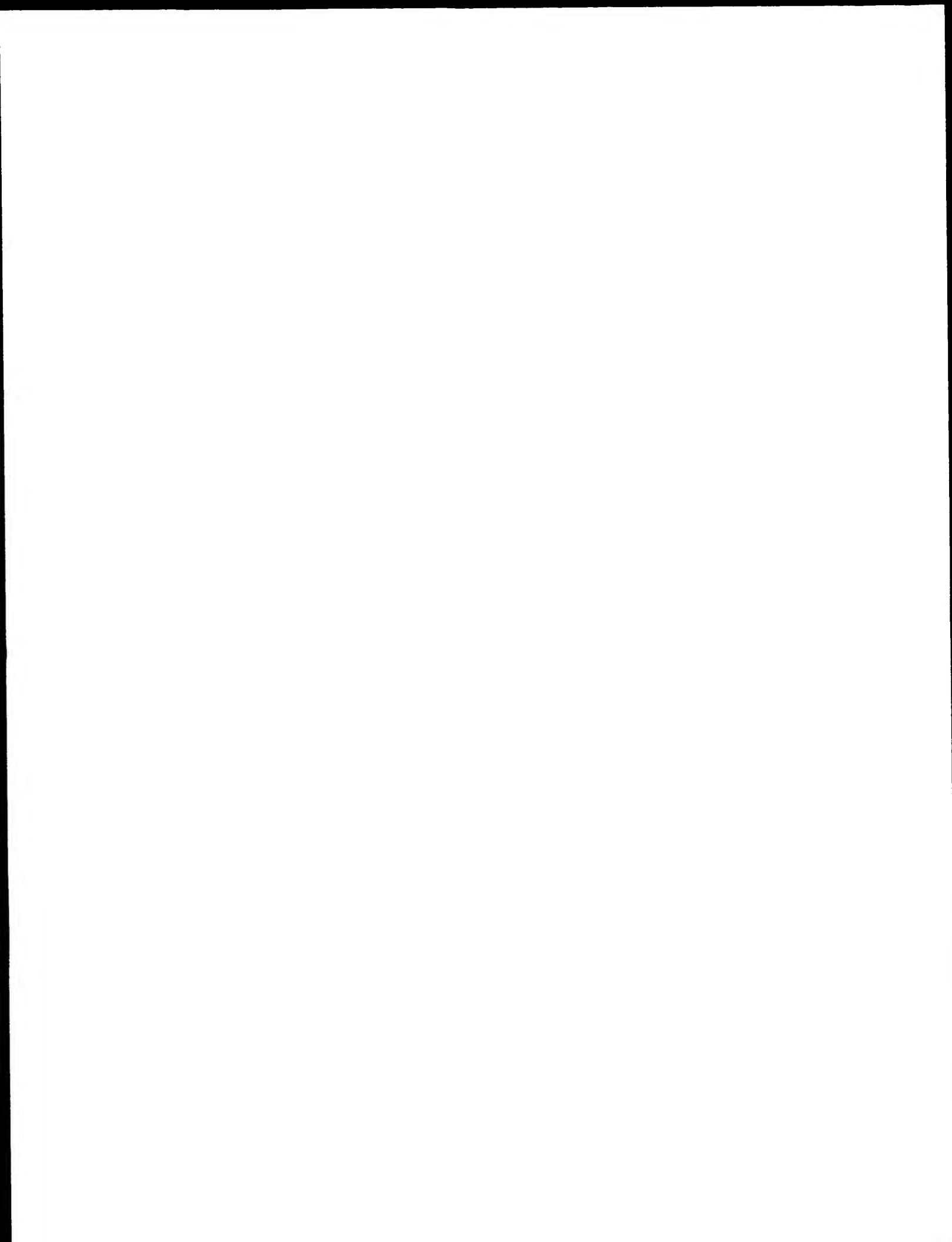
☐ in a notice effecting later election filed with the International Bureau on:

2. The election ☒ was

☐ was not

made before the expiration of 19 months from the priority date or, where Rule 32 applies, within the time limit under Rule 32.2(b).

The International Bureau of WIPO 34, chemin des Colombettes 1211 Geneva 20, Switzerland Facsimile No.: (41-22) 740.14.35	Authorized officer Juan Cruz Telephone No.: (41-22) 338.83.38
---	---



DOI

(12) NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES
PATENTWESENS (PCT) VERÖFFENTLICHTE INTERNATIONALE ANMELDUNG

(19) Weltorganisation für geistiges Eigentum
Internationales Büro



(43) Internationales Veröffentlichungsdatum
5. April 2001 (05.04.2001)

PCT

(10) Internationale Veröffentlichungsnummer
WO 01/23554 A1

(51) Internationale Patentklassifikation⁷: C12N 15/12,
15/11, C07K 14/475, 16/22, G01N 33/68, 33/577, C12Q
1/68, A61K 31/713, 38/18

(21) Internationales Aktenzeichen: PCT/EP00/09594

(22) Internationales Anmeldedatum:
29. September 2000 (29.09.2000)

(25) Einreichungssprache: Deutsch

(26) Veröffentlichungssprache: Deutsch

(30) Angaben zur Priorität:
199 47 010.3 30. September 1999 (30.09.1999) DE

(71) Anmelder (für alle Bestimmungsstaaten mit Ausnahme
von US): UNIVERSITÄTSKLINIKUM FREIBURG
[DE/DE]; Hugstetter Str. 49, 79106 Freiburg (DE).

(72) Erfinder; und

(75) Erfinder/Anmelder (nur für US): PAHL, Heike [DE/DE];
Spargelweg 32, 79112 Freiburg (DE).

(74) Anwalt: LEDERER, KELLER & RIEDERER; Prinzre-
gentenstr. 16, 80538 München (DE).

(81) Bestimmungsstaaten (national): AE, AG, AL, AM, AT,
AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, BZ, CA, CH, CN, CR, CU,
CZ, DE, DK, DM, DZ, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM,
HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK,
LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX,
MZ, NO, NZ, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, SL,
TJ, TM, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VN, YU, ZA, ZW.

(84) Bestimmungsstaaten (regional): ARIPO-Patent (GH,
GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZW), eura-
sisches Patent (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM),
europäisches Patent (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI,
FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE), OAPI-Patent
(BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GW, ML, MR, NE,
SN, TD, TG).

Veröffentlicht:

- Mit internationalem Recherchenbericht.
- Vor Ablauf der für Änderungen der Ansprüche geltenden
Frist; Veröffentlichung wird wiederholt, falls Änderungen
eintreffen.

Zur Erklärung der Zweibuchstaben-Codes, und der anderen
Abkürzungen wird auf die Erklärungen ("Guidance Notes on
Codes and Abbreviations") am Anfang jeder regulären Ausgabe
der PCT-Gazette verwiesen.

(54) Title: THE PRV-1 GENE AND USE THEREOF

(54) Bezeichnung: DAS GEN PRV-1 UND DESSEN VERWENDUNG

(57) Abstract: The invention relates to a nucleotide sequence which codes for the PRV-1 protein and which essentially comprises the ID sequence N^o.1. The invention also relates to a method for detecting this gene and the mRNA and the polypeptide that are coded for by this gene.

(57) Zusammenfassung: Es wird eine Nucleotidsequenz beschrieben, die für das PRV-1-Protein kodiert und im Wesentlichen die Sequenz ID Nr. 1 umfasst, sowie ein Verfahren zum Nachweis dieses Gens der durch dieses Gen kodierten mRNA und des durch dieses Gen kodierten Polypeptids.

WO 01/23554 A1



Das Gen PRV-1 und dessen Verwendung

Beschreibung

Die Erfindung betrifft eine Nucleotidsequenz, die das PRV-1-Gen codiert, rekombinante DNA, die diese Nucleotidsequenz enthält, Vektoren, die die rekombinante DNA enthalten und damit transformierte Zellen, sowie ein PRV-1-Polypeptid, Antikörper gegen dieses Polypeptid, Verfahren zum Nachweis des PRV-1-Polypeptids und Arzneimittel enthaltend das PRV-1-Polypeptid oder gegen das PRV-1-Polypeptid gerichtete Antikörper.

Die Polycythaemia rubra vera, auch als Polycythaemia vera oder P. vera bezeichnet, ist eine maligne hämatologische Erkrankung, bei der eine vermehrte Bildung erythroider, granulozytärer und megakaryozytärer Zellen vorliegt. Die Erkrankung ist klonalen Ursprungs und entsteht durch Mutation einer einzigen hämatopoietischen Vorläuferzelle. Die Inzidenz der P. vera beträgt 4 bis 6 pro Million Einwohner in Deutschland. Unbehandelt führt die Krankheit innerhalb von 18 Monaten zum Tod. Eine Behandlung durch Aderlässe oder Chemotherapie verlängert die durchschnittliche Überlebensdauer auf über 13 Jahre.

Die Diagnose der P. vera erfolgt über klinische Kriterien. Zum klinischen Bild gehören Kopfschmerzen, Pruritus, Splenomegalie bei zwei Drittel der Patienten, Blutungen oder Thrombosen, Bluthochdruck bei einem Drittel der Patienten, Gicht, ausgelöst durch gesteigerte Harnsäureproduktion und in manchen Fällen septische Ulcera. Der wichtigste Laborbefund ist eine Erhöhung der Werte für Hämoglobin, Hämatokrit, Erythrozytenzahl und Erythrozytengesamtvolumen sowie eine neutrophile Granulozytose oder Thrombozytose in vielen Fällen.

Da einerseits die meisten Kriterien eher diffus sind und andererseits nicht alle Patienten diese Kriterien erfüllen, ist es häufig schwierig, die P. vera von anderen myeloproliferativen Erkrankungen, wie chronischer myeloischer Leukämie, oder essentieller Thrombozytämie, abzugrenzen und damit die Diagnose zu sichern. Die molekulare Ursache der P. vera ist bisher vollkommen unbekannt. Da aber die P. vera, wenn sie nicht behandelt wird, einen schweren Verlauf nimmt, ist eine genaue Diagnose wichtig.

Eine Aufgabe der Erfindung war es daher, die molekulare Ursache der Polycythaemia rubra vera aufzufinden und eine Möglichkeit zu ihrer Diagnose zu schaffen.

Diese Aufgabe wurde gelöst, indem ein Gen isoliert wurde, das spezifisch bei P. vera und nicht bei gesunden Kontrollen exprimiert wird. Dieses Gen wird als PRV-1-Gen (Polycythaemia rubra vera) bezeichnet.

Eine ähnliche Nucleotidsequenz wird in der internationalen Anmeldung WO 98/50552 offenbart.

Ein Gegenstand der Erfindung ist daher ein Polynucleotid, das für das PRV-1-Gen codiert und im wesentlichen die Sequenz ID Nr. 1 umfaßt. Die Polynucleotide der vorliegenden Erfindung können einzel- oder doppelsträngige DNA oder RNA sein. Falls es sich um RNA handelt, ist dem Fachmann klar, daß anstelle von "T"-Nucleotiden "U"-Nucleotide vorliegen. Unter "Polynucleotid" sind Nucleinsäuren mit 15 oder mehr Nucleotiden zu verstehen.

Die erfindungsgemäße Nucleotidsequenz ist in Figur 1 wiedergegeben. Gegenstand der Erfindung ist daher ein Polynucleotid, das der Sequenz von Figur 1 entspricht, sowie ein Polynucleotid, dessen Nucleotidsequenz geringfügige Abweichungen aufweist (Variante). Unter geringfügigen Abweichungen werden im Sinne der vorliegenden Anmeldung solche Sequenzen verstanden, bei denen einige wenige, vorzugsweise

nicht mehr als 50 und besonders bevorzugt nicht mehr als 25 Nucleotide ausgetauscht sein können, wobei jedoch die Funktion des durch die Nucleotidsequenz kodierten Gens nicht berührt wird. Dem Fachmann ist bekannt, daß ein für eine Aminosäure kodierendes Basentriplett durch ein anderes Triplett ersetzt werden kann, das für dieselbe Aminosäure kodiert. Darüber hinaus können weniger wichtige Bereiche geringfügig deletiert und/oder mutiert sein. In einer besonderen Ausführungsform umfaßt das Polynucleotid die Nucleotide 36 bis 1346 der Sequenz Nr. 1, also den kodierenden Bereich des PRV-1-Gens. Weitere Ausführungsformen umfassen die Nucleotide 36 bis 1262 bzw. 36 bis 1238 von Sequenz Nr. 1. Dieser Bereich kodiert vermutlich für den aktiven Bereich des PRV-1-Polypeptids. Das Polynucleotid der Erfindung kann schließlich auch die Nucleotide 39 bis 1346, 39 bis 1262 oder 39 bis 1238 von Sequenz Nr. 1 umfassen, so daß das Codon, das für das Start-Methionin kodiert, nicht enthalten ist. Eine bevorzugte Ausführungsform ist ein Polynucleotid, das die Nucleotide 99 bis 1346, 99 bis 1262 oder 99 bis 1238 von Sequenz Nr. 1 umfaßt. Es sind damit die Codons am 5'-Ende, die für das Signalpeptid des PRV-1-Polypeptids kodieren, nicht enthalten.

Das erfindungsgemäße Polynucleotid kann auch ein Fragment des PRV-1-Gens sein. Das Fragment weist in der Regel mehr als 100 Nucleotide auf, bevorzugt aber mehr als 300 Nucleotide. Die Fragmente können auch als Primer oder als Sonden insbesondere für die PCR eingesetzt werden, in diesem Fall können die Fragmente dem Zweck entsprechend verkürzt sein. Üblicherweise haben Primer eine Länge zwischen 10 und 30 Nucleotiden und Sonden eine Länge zwischen 15 und 50 Nucleotiden.

Das PRV-1-Gen ist ein körpereigenes Gen, das jedoch bei gesunden Personen nur auf wenige Organe beschränkt exprimiert wird. Normalerweise wird es im wesentlichen in den blutbildenden Organen, d.h. im Knochenmark und fötaler Leber, und schwach in der Milz exprimiert, nicht jedoch in Herz, Muskel, Pankreas oder Niere. Bei Patienten, die unter P. vera

leiden, wird dieses Gen, vor allem in den hämatopoietischen Zellen, sehr stark überexprimiert.

Das PRV-1-Gen kodiert für ein Protein, das die in Figur 2 gezeigte Proteinsequenz aufweist. Das Signalpeptid, das in der Proteinsequenz sämtlicher Oberflächenmoleküle enthalten ist und bei der Prozessierung des Proteins üblicherweise entfernt wird, ist durch einen Bindestrich abgetrennt. Das Protein hat die Sequenz ID Nr. 2. Ein weiterer Aspekt der Erfindung ist also ein im wesentlichen reines Polypeptid der Sequenz Nr. 2 oder ein Polypeptid der Sequenz Nr. 2, bei dem das Signalpeptid nicht vorhanden ist (Aminosäuren 22 bis 437 von Sequenz Nr. 2). Weitere Ausführungsformen umfassen die Aminosäuren 1 bis 409, 22 bis 409, 1 bis 401 oder 22 bis 401 der Sequenz Nr. 2 (vermutlich aktiver Bereich des Proteins).

Das erfindungsgemäße Polypeptid ist im Hinblick auf die biologische Aktivität vorzugsweise glycosyliert, am bevorzugtesten ist es N-glycosyliert. Es kann dann an wenigstens einer der Aminosäuren Asn-46, Asn-189 und Asn-382 des PRV-1-Polypeptids glycosyliert sein (Die Aminosäurenzahlen beziehen sich auf die Sequenz Nr. 2). Die Erfindung schließt auch Fragmente der erfindungsgemäßen Polypeptide ein, die N-glycosyliert sind. Die Fragmente sind wenigstens 50 Aminosäuren lang, bevorzugt wenigstens 100 Aminosäuren, am bevorzugtesten wenigstens 150 Aminosäuren. In einer anderen Ausführungsform kann das Polypeptid O-glycosyliert sein.

Dem Fachmann ist klar, daß bestimmte Aminosäuren gegen andere ausgetauscht sein können ohne die biologische Aktivität des Proteins zu beeinträchtigen. Solche abgewandelten Formen der erfindungsgemäßen Polypeptide sind auch Gegenstand der Erfindung (Varianten). Bei den Aminosäureaustauschen handelt es sich um solche, die die biologische Aktivität des Proteins nicht negativ beeinträchtigen. Für die Auswahl der Austausche kann der Fachmann auf allgemein bekannte Regeln zurückgreifen.

Das PRV-1-Polypeptid kann herstellungsbedingt beispielsweise einen Glycosylphosphatidylinositol-Anker aufweisen. Dieser ist dann an den Aminosäuren gebunden, die den Aminosäuren 407 bis 409 der Sequenz ID Nr. 2 entsprechen. Ein GPI-Anker dient dazu, ein Protein mittels eines Lipids auf der Außenseite der Zellmembran zu verankern. Aus bislang nicht endgültig geklärten Gründen beobachtet man aber häufig, daß GPI-gelinkte Proteine auch ins Medium abgegeben werden. Man spricht von einem sogenannten "shedding". Ob dies ein spezifischer Prozeß ist, das heißt solche Proteine in einer kontrollierten Weise von Enzymen aus der Membran abgespalten werden, oder ob es ein unspezifischer Verlust des Ankers ist, ist bislang nicht geklärt. Es ist also sehr wahrscheinlich, daß PRV-1 sowohl an der Zellmembran als auch extrazellulär zu finden ist. Für die Wirkung als Wachstumsfaktor und Wachstumshemmer ist wahrscheinlich die sezernierte, nicht Membran-gebundene Form wichtiger, da sie als Wachstumsfaktor diffundieren und andere Zellen erreichen kann.

Dem Fachmann ist klar, daß er durch Manipulation dieser C-terminalen Aminosäuren die Membranständigkeit des Proteins beeinflussen kann. Dies betrifft vor allem die Herstellung bestimmter DNA-Konstrukte, die zur Expression des PRV-1-Polypeptids oder von Fragmenten davon bestimmt sind. Die Codons, die für diese Aminosäuren kodieren, können mutiert oder deletiert sein.

Das Gen codiert für einen Oberflächenrezeptor der uPAR/Ly6-Familie. Diese Rezeptorenfamilie kann mitogene Signale, d.h. Signale, die die Zellteilung anregen, übertragen. Es wird daher angenommen, daß die Überexpression des PRV-1-Gens, unter anderem auf den Knochenmarkszellen von P. vera-Patienten, zu einer Hyperproliferation dieser Zellen beiträgt.

Es wurde gefunden, daß weder bei gesunden Personen noch bei Patienten mit anderen myeloproliferativen Erkrankungen, z.B. mit chronischer myeloischer Leukämie, akuter myeloischer

Leukämie, essentieller Thrombozytämie oder sekundärer Erythrozytose PRV-1 auf Granulozyten exprimiert wird.

Um das von dem PRV-1-Gen codierte Polypeptid für Analysen und Nachweisverfahren einsetzen zu können, wird es in geeigneter Weise aus rekombinanter DNA erzeugt, wobei die rekombinante DNA bevorzugt die Nucleotidsequenz ID Nr. 1 oder wenigstens den kodierenden Bereich des PRV-1-Gens, also die Nucleotide 36 bis 1346 von Sequenz ID Nr. 1, oder aber wenigstens die Nucleotide 39 bis 1262 oder 39 bis 1238, funktionell verbunden mit einem Promotor, umfaßt. Die rekombinante DNA kann jedoch auch nur ein Fragment der Sequenz Nr. 1 umfassen.

Ein weiterer Gegenstand der Erfindung ist ein Vektor, der die rekombinante DNA für das PRV-1-Polypeptid oder ein Fragment davon enthält, sowie eine mit diesem Vektor transfizierte oder transformierte Wirtszelle. Die Wirtszellen können prokaryontisch sein, beispielsweise Bakterien wie *E. coli*. Dabei werden jedoch nicht-glycosylierte Polypeptide exprimiert. Bevorzugt sind daher eukaryontische Wirtszellen, die das exprimierte Protein posttranslational glycosylieren und anderweitig modifizieren können. Beispiele für eukaryontische Wirtszellen sind Insektenzellen wie Sf9-Zellen zur Expression nach Infektion mit rekombinanten Baculoviren, Säugerzellen wie 293-Zellen, COS-Zellen, CHO-Zellen, HeLa-Zellen. Diese Beispiele sind nicht erschöpfend. Auch Hefezellen sind als Wirtszellen möglich. Dem Fachmann ist klar, daß je nach Wirtszelle das Glycosylierungsmuster unterschiedlich sein kann. Damit kann auch die biologische Aktivität des Expressionsprodukts variieren. Besonders bevorzugt sind Wirtszellen, die das Expressionsprodukt derart glycosylieren, daß die biologische Aktivität des Proteins erhalten ist.

Ein weiterer Aspekt der Erfindung ist ein Verfahren zur Herstellung eines erfindungsgemäßen Polypeptids. Dabei wird eine für das erfindungsgemäße Polypeptid kodierende DNA in einer Wirtszelle zur Expression gebracht. Je nachdem, ob das

exprimierte Polypeptid von der Wirtszelle in das Kulturmedium sezerniert wird oder in der Zelle verbleibt, werden für die weitere Gewinnung des Polypeptids das Kulturmedium oder die Zellen eingesetzt. Das erfindungsgemäße Polypeptid wird daraufhin durch im Stand der Technik bekannte Verfahren, beispielsweise chromatographische Verfahren, angereichert bzw. gereinigt. Methoden der Proteinreinigung sind beispielsweise beschrieben in Scopes, R., Protein Purification: Principles and Practice (3rd edition), Springer Verlag (1994). In einer besonderen Ausführungsform umfaßt das erfindungsgemäße Verfahren einen Schritt, in dem glycosyliertes Polypeptid angereichert bzw. gereinigt wird. Dieser Schritt kann erfolgen, bevor das erfindungsgemäße Polypeptid im wesentlichen gereinigt worden ist oder nachdem es bereits im wesentlichen gereinigt worden ist. Im letzteren Fall wird dann der glycosylierte Anteil des gereinigten Polypeptids abgetrennt und gewonnen. In der bevorzugtesten Ausführungsform des Verfahrens wird spezifisch N-glycosyliertes Polypeptid gewonnen. In einer weiteren Ausführungsform des Verfahrens wird Polypeptid gewonnen, das an wenigstens einer der Aminosäuren Asn-46, Asn-189 und Asn-382 der Sequenz Nr. 2 glycosyliert ist.

Das aus Granulozyten gewonnene oder rekombinant erzeugte PRV-1-Polypeptid kann sowohl zur Diagnose von Polycythämia vera als auch zur Behandlung der Krankheit eingesetzt werden.

Eine Möglichkeit der Therapie besteht in der sogenannten "Antisense-Therapie". Bei diesem Verfahren wird ein "Antisense"-RNA-Molekül, also eine RNA, die komplementär ist zu der PRV-RNA, eingesetzt. Da die PRV-1-RNA an ihrem Anfang die Sequenz 5'-AAAAGCAGAAAGAGATTACCAGCC-3' (Seq. ID-No. 3) hat, würde die erforderliche Antisense-RNA gegen diese Sequenz die folgende Nucleotidsequenz aufweisen: 5'-GGCTGGTAATCTCTTTCTGCTTTT-3' (Seq. ID-No. 4). Diese Antisense-RNA wird in einen Vektor eingebaut und in P. vera-Zellen eingebracht. Das Einbringen dieser RNA erfolgt beispielsweise über Transfektion, wobei der für die Transfektion verwendete

Vektor vorzugsweise so gestaltet ist, daß er spezifisch in die P. vera-Zellen eingebracht wird. Die Expression der Antisense-RNA bewirkt, daß die PRV-1-mRNA nicht mehr zu einem Polypeptid translatiert werden kann. In derart behandelten Zellen entsteht dann kein PRV-1-Protein.

Ein weiterer Gegenstand der Erfindung ist daher ein Verfahren zum Nachweis von P. vera, das dadurch gekennzeichnet ist, daß man das PRV-1-Polypeptid oder ein Epitop davon nachweist und das Ausmaß der Expression bestimmt.

Eine Überexpression dieses Rezeptors auf reifen Zellen außerhalb des Knochenmarks, z.B. auf Granulozyten, ist ein starker Hinweis auf das Vorliegen der Erkrankung P. vera. Der Nachweis erfolgt geeigneterweise mit einem Immunoassay unter Verwendung von Antikörpern, die gegen den PRV-1-Rezeptor gerichtet sind. Als Testverfahren eignen sich die bekannten Varianten von Immunoassays, bei denen für das PRV-1-Polypeptid spezifische Antikörper eingesetzt werden zusammen mit weiteren markierten Antikörpern, die immobilisiert oder in Lösung sein können. Die Markierung kann in an sich bekannter Weise erfolgen, z.B. mit radioaktiven Isotopen, durch Fluoreszenz oder Lumineszenz, mit Enzymen, durch farbbildende Reaktionen oder sonstige zur Bestimmung geeigneten Gruppen. Diese Varianten sind dem Fachmann bekannt und bedürfen hier keiner näheren Erläuterung. Erfindungsgemäß werden ELISA-Tests besonders bevorzugt.

Die zum spezifischen Nachweis des PRV-1-Rezeptors erforderlichen Antikörper können ebenfalls in an sich bekannter Weise hergestellt werden. Geeignet sind sowohl monoklonale als auch polyklonale Antikörper, wobei die Verwendung monoklonaler Antikörper bevorzugt ist.

Für die Herstellung von Antikörpern können auch aus dem Protein hergeleitete Peptide benutzt werden. Im Rahmen der vorliegenden Erfindung wurden erfolgreich die Peptide mit den Sequenzen:

- a) KVSDLPRQWTPKN (Aminosäuren 34 bis 46) [Seq. ID-No. 5] und
- b) SAREKRDVQPPASQH (Aminosäuren 391 bis 405) [Seq. ID-No. 6]
- eingesetzt.

Die polyklonalen Antikörper werden üblicherweise erzeugt, indem ein geeigneter Wirt (Kaninchen) mit dem PRV-1-Polypeptid, gegebenenfalls gebunden an einem immunologischen Träger (Adjuvans), immunisiert und eine Immunantwort hervorgerufen wird. Monoklonale Antikörper können in an sich bekannter Weise mit der Hybridoma-Technik erzeugt werden. Die Antikörper können durch Affinitätsreinigung gereinigt werden. Herstellung und Reinigung von Antikörpern sind beispielsweise beschrieben in "Antibodies: A Laboratory Manual" von Harlow und Lane, Cold Spring Harbor Laboratory Press.

Weiterhin können derartige polyklonale oder monoklonale gegen PRV-1 gerichtete Antikörper auch zur Therapie der Krankheit verwendet werden.

In einer weiteren Ausführungsform kann der Nachweis des PRV-1-Rezeptors mit einem RT-PCR-Verfahren erfolgen. Dazu wird zunächst aus den PRV-1 überexprimierenden Zellen, in der Regel Granulozyten, RNA isoliert. Dann wird in an sich bekannter Weise mit einem RT-Primer eine reverse Transkription vorgenommen. Der RT-Primer ist bevorzugt ein Primer mit der folgenden Nucleotidsequenz (SEQ ID-No. 7)

ATTAGGTTATGAGGTCAGAGGGAGGTT.

Dadurch wird die spezifische PRV-1-RNA in DNA umgewandelt. Diese DNA wird dann in einer PCR-Reaktion in an sich bekannter Weise amplifiziert. Für die Amplifikationszyklen werden bevorzugt die folgenden beiden Primer eingesetzt.

Als Primer sense (SEQ ID-No. 8)

GCAGAAAGAGATTACCAGCCACAGACGG.

Primer antisense (SEQ ID-No. 9)

GAATCGTGGGGGTAATAGAGTTAGCAGG.

Mit der offenbarten Sequenz kann der Fachmann ohne weiteres andere ebenfalls geeignete Primer auffinden.

Da die RNA als Ausgangsmaterial für dieses Verfahren verwendet wird, ist das PCR-Signal nur in solchen Fällen positiv, in denen das PRV-1-Gen auch exprimiert wird. Wie oben ausgeführt, ist dies nur dann der Fall, wenn der Patient unter P. vera leidet. Bei gesunden Patienten erfolgt keine PRV-Expression in den Granulozyten. Die Abwesenheit eines RT-PCR-Signals deutet also daraufhin, daß keine P. vera vorliegt. Vorzugsweise erfolgt die Quantifizierung in dem RT-PCR-Verfahren mit Hilfe der TaqMan[®]-Technologie. Für diese Quantifizierung wird neben Primern auch eine "probe" benötigt. Die bevorzugte Sequenz der "probe" ist 5'-TTCTTGTTGAACCACACCAGACAAATCGG-3' (SEQ ID NO:10). Daher ist die quantitative RT-PCR zum Nachweis des PRV-1-Transkripts ebenfalls Gegenstand dieser Erfindung.

In einer weiteren Alternative kann auch ein Blotting-Verfahren, bevorzugt ein Northern Blot, zur Diagnose einer P. vera benutzt werden. Für ein derartiges Verfahren wird die RNA aus Granulozyten isoliert und dann mit einem Blotting-Verfahren, z.B. Northern Blot, auf die Expression von PRV-1 untersucht. Als Sonde kann die cDNA-Sequenz von SEQ ID Nr. 1 oder ein Abschnitt der Sequenz verwendet werden. Eine Hybridisierung tritt nur dann auf, wenn die Granulozyten von einem Patienten mit P. vera stammen, da nur dann eine Expression auf den Granulozyten vorhanden ist. Die Abwesenheit einer Hybridisierung deutet daraufhin, daß die Person, von der die Granulozyten stammen, keine P. vera hat.

Für die Northern Blot-Hybridisierung kann auch ein Fragment des Gens eingesetzt werden. Ein derartiges Fragment ist

üblicherweise mehr als 100 Basen lang, vorzugsweise mehr als 300 Basen lang. Alternativ hierzu können durch Verdau des Gens mit Restriktionsendonukleasen verschiedene unterschiedliche Fragmente des Gens hergestellt werden, die als Sonden im Northern Blot verwendet werden können. Wenn die Fragmente von der cDNA her stammen, liegen sie als Doppelstränge vor, die für die Hybridisierung in die Einzelstränge aufgetrennt werden müssen. Geeignete Beispiele sind das Bam HI-PstI-Fragment von Basenpaar 420 bis Basenpaar 831 oder das PstI-PstI-Fragment von Basenpaar 831 bis Basenpaar 1900.

Der Nachweis von PRV-1-mRNA und damit der PRV-1-Expression kann auch dadurch erfolgen, daß zunächst in einer RT-PCR-Reaktion die mRNA revers transkribiert wird und die cDNA anschließend amplifiziert wird und dann die amplifizierte DNA mit einer Sonde in einem Hybridisierungsverfahren nachgewiesen wird.

Bei einer positiven Diagnose muß die Krankheit behandelt werden, da sie ansonsten in relativ kurzer Zeit zum Tod führt. Hierzu können spezifische gegen PRV-1 gerichtete Antikörper verwendet werden, an die gegebenenfalls zytotoxische Komponenten gebunden sein können.

Ein weiterer Gegenstand der Erfindung ist daher ein Arzneimittel, das neben üblichen Trägern gegen den PRV-1-Rezeptor gerichtete Antikörper enthält.

Da bei der P. vera der PRV-1-Rezeptor überexprimiert wird, kommt es bei Kontakt mit dem Anti-PRV-1-Antikörper zur Bindung von vielen Antikörpern auf der Oberfläche der befallenen Granulozyten. Die Bindung vieler Antikörper an diesen Zellen ist ein Anreiz für die immunologischen Zellen, diese Zellen zu zerstören. Auf diese Weise ist eine spezifische Eliminierung der P. vera-Zellen möglich.

Überraschenderweise wurde auch gefunden, daß das PRV-1-Polypeptid hämatopoietische Aktivität aufweist. Das PRV-1-

Polypeptid ist in der Lage, bestimmte hämatopoietische Vorläuferzellen zur Bildung erythroider Kolonien anzuregen. Vor allem die N-glycosylierten Polypeptide von PRV-1 weisen diese Funktion auf. Von den erfindungsgemäßen Polypeptiden sind daher die N-glycosylierten PRV-1-Polypeptide und Fragmente davon, die die Wachstumsfaktoraktivität aufweisen, bevorzugt.

Ein weiterer Aspekt der Erfindung ist daher ein Arzneimittel, das neben einem pharmazeutisch verträglichen Träger das PRV-1-Polypeptid oder ein biologisch aktives Fragment davon enthält. Bevorzugt handelt es sich um glycosyliertes PRV-1-Polypeptid, noch bevorzugter um N-glycosyliertes PRV-1-Polypeptid oder ein biologisch aktives Fragment davon. Die Erfindung betrifft auch Arzneimittel, die wenigstens ein erfindungsgemäßes Polynucleotid enthalten.

Die vorliegende Erfindung betrifft weiterhin die Verwendung von PRV-1-Polypeptid oder einem biologisch aktiven Fragment davon oder einer biologisch aktiven Variante davon als Wachstumsfaktor in vivo und ex vivo. Das PRV-1-Polypeptid oder ein biologisch aktives Fragment davon oder eine biologisch aktive Variante davon kann verwendet werden zur Behandlung sämtlicher pan-Zytopenien und pan-Zytopathien im Knochenmark und in der Zirkulation (Änderung der zellulären Bestandteile des peripheren Blutes und des Knochenmarks). Die Polypeptide der vorliegenden Erfindung können beispielsweise verwendet werden zur Behandlung von Anämien bei Nierenversagen, Chemotherapie oder Ganzkörperbestrahlung, zur Behandlung von Neutropenien und Thrombozytopenien unter Chemotherapie oder Ganzkörperbestrahlung, zur ex vivo Behandlung von peripheren oder Knochenmarks-Stammzellen zur Expansion (Vermehrung) und Retransfusion in den Patienten, und zur Behandlung von Sepsis, "systemic inflammatory response syndrome" (SIRS) oder regionaler Entzündungsreaktion. Die Polypeptide der vorliegenden Erfindung oder diese enthaltende Arzneimittel können auf verschiedenste Weise appliziert werden. Die Darreichungsformen umfassen intravenöse, intramuskuläre,

subkutane, intraperitoneale, orale, transdermale und transmukosale Verabreichung.

Auch die erfindungsgemäßen Polynucleotide können zur Behandlung von pan-Zytopenien und pan-Zytopathien verwendet werden. Ziel ist dabei die Expression eines PRV-1-Polypeptids oder eines funktionellen Fragments davon in Zellen des betroffenen Patienten. Dabei kommen vor allem Verfahren der Gentherapie zur Anwendung. Zellen des Patienten können isoliert werden und mit einem erfindungsgemäßen Polynucleotid transfiziert werden (ex vivo-Manipulation), um dann dem Patienten wieder zugeführt zu werden. Es sind auch Verfahren denkbar, bei denen die erfindungsgemäßen Polynucleotide durch viralen Transfer in die Zielzellen gelangen. Expression der eingeführten Nucleinsäuren führt dann zu hämatopoietischer Aktivität.

Überraschenderweise wurde ebenfalls gefunden, daß das PRV-1-Polypeptid in höherer Konzentration eine hemmende Wirkung auf das Wachstum von Zellen hat. So wurde beispielsweise festgestellt, daß vermehrte Zugabe von PRV-1-Protein die Bildung erythroider und granulozytärer/monozytärer Kolonien praktisch vollkommen unterbindet. Dieser Effekt ähnelt der Wirkung von Interferon- α , welches unter anderem therapeutisch bei der chronischen myeloischen Leukämie (CML) und bei der P. vera verwendet wird. Eine körpereigene inhibitorische Substanz hat große Vorteile gegenüber einem chemischen Zytostatikum wie Hydroxyharnstoff, der verwendet wurde, als Interferon- α noch nicht verfügbar war und zum Teil immer noch verwendet wird. Ein Nachteil von Interferon- α ist, daß dieser Wirkstoff sehr schwere Nebenwirkungen hat. Die Patienten fühlen sich, als würden sie an einer schlimmen Grippe leiden. Die vorliegende Erfindung stellt eine die Hämatopoese inhibierende Substanz zur Verfügung, wobei die hemmende Aktivität konzentrationsabhängig ist.

Ein weiterer Aspekt der Erfindung ist daher die Verwendung eines in dieser Anmeldung beschriebenen PRV-1-Polypeptids zur Hemmung des Wachstums von Zellen, insbesondere die Verwendung als Zytostatikum. Bevorzugt wird das Polypeptid zur Hemmung des Wachstums von hämatopoietischen Zellen eingesetzt. Die Erfindung betrifft auch die Verwendung eines erfindungsgemäßen Polypeptids zur Herstellung eines Arzneimittels zur Behandlung von proliferativen Erkrankungen. Solche Erkrankungen sind insbesondere die myeloproliferativen Erkrankungen, P. vera, Essentielle Thrombozythämie, Myelofibrose, CML sowie sämtliche Leukämien und Lymphome sowie solide Tumoren.

Ein weiterer Aspekt der Erfindung ist die Verwendung eines in dieser Anmeldung beschriebenen Polynucleotids, eines biologisch aktiven Fragments oder einer biologisch aktiven Variante davon zur Hemmung des Wachstums von Zellen. Das Polynucleotid kann in einen geeigneten Vektor eingebaut werden und in geeignete Zielzellen transfiziert werden. Nach Expression des PRV-1-Polypeptids oder eines biologisch aktiven Fragments davon oder einer biologisch aktiven Variante davon in entsprechender Konzentration kommt der wachstumshemmende Effekt zur Geltung. Ebenso kann das Polynucleotid in einen viralen Vektor eingebaut werden, wonach entsprechende Zielzellen viral infiziert werden, was zur Expression von PRV-1 führt. Die Erfindung betrifft auch die Verwendung eines Polynucleotids dieser Anmeldung zur Herstellung eines Arzneimittels zur Behandlung von proliferativen Erkrankungen wie z.B. die myeloproliferativen Erkrankungen, P. vera, Essentielle Thrombozythämie, Myelofibrose, CML sowie sämtliche Leukämien und Lymphome sowie solide Tumoren.

Die Erfindung betrifft auch Kits zum Nachweis entweder von Polycythaemia vera oder von Störungen des hämatopoietischen Systems. Diese enthalten ein erfindungsgemäßes Polynucleotid und/oder ein erfindungsgemäßes Polypeptid und/oder einen oder mehrere erfindungsgemäße Antikörper. Darüber hinaus kann das Kit noch einen Behälter oder Zusammensetzungen, die zur

Durchführung von Nachweisreaktionen geeignet sind, enthalten. Beispiele für solche Zusammensetzungen sind Pufferlösungen, Reagenzien zum Blockieren von Membranen, Hybridisierungslösungen, sekundäre Antikörper, Substratlösungen für Nachweisreaktionen und andere. Das Kit wird bevorzugt zur Durchführung von PCR-Reaktionen, RT-PCR, Northern Blots, Southern Blots, Western Blots, ELISA, RIA oder ähnlichen Reaktionen verwendet.

Zur Erläuterung werden folgende Beispiele angegeben.

Beispiel 1

Charakterisierung des PRV-Gens

Die folgenden Experimente wurden durchgeführt, um das Gen zu charakterisieren:

- Granulozyten wurden aus Blutkonserven oder Aderlässen von P. vera Patienten nach folgendem Protokoll isoliert:

- Blut wurde mit einem gleichem Volumen an 3% Dextran-Lösung in 0.9% NaCl versetzt und 20 Minuten bei Raumtemperatur (RT) stehengelassen.

- Der Ansatz trennte sich in zwei Phasen. Die obere helle Phase wurde abgenommen und 10 Minuten bei 1800g und RT zentrifugiert.

- Der Überstand wurde verworfen und das Zellpellet im gleichen Volumen 0.9% NaCl resuspendiert.

- Jeweils 35 ml der Zellen in NaCl wurden auf 15 ml Ficoll-Hypaque geschichtet.

- Dann wurde 60 Minuten bei 1800g und RT ohne Bremse zentrifugiert.

- Es bildeten sich ein Zellpellet und zwei Schichten mit einer Interphase.

- Schichten und Interphase wurden abgesaugt und das Zellpellet 30 Sekunden lang in 10 ml eiskalter 0.2% NaCl

resuspendiert und nach 30 Sekunden wurden sofort 10 ml eiskalte 1.6% NaCl zugegeben.

- Die Zellen wurden 10 Minuten bei 1800g und RT abzentrifugiert.

- Dann wurde einmal in 10 ml PBS gewaschen und abzentrifugiert.

- Das Zellpellet enthielt 95-99% reine Granulozyten.

- Aus diesen Zellen wurde mit Standardmethoden RNA isoliert.

- 10 mg dieser RNA wurden in einem Northern-Blot auf die Expression von PRV-1 untersucht. Als Sonde wurde die gesamte cDNA-Sequenz von SEQ ID Nr. 1 verwendet.

Dieser Versuch wurde an 39 P. vera Patienten und 29 Kontroll-Blutkonserven durchgeführt. Es wurde eine starke Hybridisierung der PRV-1 Sonde bei P. vera Patienten gefunden. Bei gesunden Kontrollen wurde keine Hybridisierung beobachtet.

Beispiel 2

PRV-1 hat Wachstumsfaktor-Aktivität

Aus einer schwangeren Maus wurden Embryos am Tage 13,5 nach Befruchtung entnommen. Die fötalen Lebern wurden entnommen. Die darin enthaltenen Zellen wurden mittels Antikörper angefärbt und durch Säulen-Chromatographie für bestimmte Zellen angereichert, für andere Zellsorten depletiert. Es resultiert ein Zellgemisch, das für bestimmte hämatopoietische Vorläuferzellen (sog. colony forming units-erythroid, CFU-E) angereichert ist. So sind in der fötalen Leber insgesamt ungefähr 2% CFU-E, in den angereicherten Zellen aber 30-40% CFU-E.

Diese CFU-E wurden retroviral transfiziert. Dazu wurde 48 Stunden vorher eine sogenannte "packaging cell line", genannt 293-T, ihrerseits transfiziert. 293-T-Zellen sind eine

etablierte humane embryonale Nieren-Zelllinie. 293-T-Zellen sind stabil mit mehreren Genen eines Retrovirus transfiziert. Werden nun diese 293-T-Zellen mit zwei Plasmiden, genannt pOS und pKAT, transfiziert, produzieren die 293-T-Zellen ein Retrovirus, das murine fötale Leberzellen infizieren kann. Transfiziert man die 293-T-Zellen mit einem leeren pOS-Vektor und pKAT, wird ein "wild typ" Retrovirus produziert, das nur retrovirale Proteine exprimiert. Hat man hingegen in den pOS-Vektor ein humanes Gen einkloniert, z.B. PRV-1, wird ein Retrovirus produziert, das, wenn es Zellen infiziert hat, dieses Protein exprimiert. Das Retrovirus wird von den 293-T-Zellen in das Zellkultur-Medium sezerniert.

Nach zwei Tagen wird das Zellkultur-Medium der transfizierten 293-T-Zellen, welches das Retrovirus enthält, geerntet und einmal durch einen 0,45 µm Filter filtriert. Um die fötalen Leberzellen zu transfizieren, werden diese Zellen mit dem filtrierten Zellkultur-Medium, welches das Retrovirus enthält, vermischt und 2 Stunden bei 1800 rpm, 20°C unter Zugabe von Polybren zentrifugiert. Anschließend werden die transfizierten fötalen Leberzellen in einem Medium kultiviert (Methocult, der Firma Cell Systems), welches zusätzlich zu den üblichen Salzen und Aminosäuren, fötales Kälberserum, 0,0001-0,4 IU/ml Erythropoetin (EPO) und Methylcellulose (0,8%) enthält. Das EPO benötigen die CFU-E, um hämatopoetische Kolonien auszubilden. Durch die Methylcellulose wird das Medium Gelee-artig fest, und es gelingt, einzelne Zellen in diesem Gelee zu fixieren, so daß sie sich, anders als in flüssigem Medium, nicht bewegen können. Daher kann beobachtet werden, ob sich aus einer einzelnen Zelle eine hämatopoetische Kolonie formt oder nicht. CFU-Es bilden erythroide Kolonien, also Kolonien, die rote Blutzellen und deren Vorläuferzellen enthalten.

Nach drei Tagen wird gezählt, wie viele hämatopoietische Kolonien sich entwickelt haben. Verschiedene Ansätze werden verglichen. Nicht in jedem Experiment wurden alle Ansätze überprüft; Ansätze 1-3 sind sehr ähnliche Kontrollen und können jeweils einzeln mit Ansatz 4 verglichen werden.

- Ansatz 1: Zellen, die nicht retroviral transfiziert wurden;
 Ansatz 2: Zellen, die mit einem leeren pOS-Vektor transfiziert wurden;
 Ansatz 3: Zellen, die mit einem "green fluorescent Protein" (GFP), einem nicht hämatopoietisch aktiven Protein, transfiziert wurden.
 Ansatz 4: Zellen, die mit pOS-PRV-1 (Vektor + erfindungsgemäßes Gen) transfiziert wurden.

Tabelle 1: Die Ergebnisse von drei wie beschrieben durchgeführten Versuchen sind aufgeführt. Die Zahlen geben jeweils die Anzahl der Kolonien an.

	Ansatz 1	Ansatz 2	Ansatz 3	Ansatz 4
	nicht transfiziert	leerer Vektor (pOS)	GFP (pOS-GFP)	PRV-1 (pOS-PRV-1)
Versuch 1	116	156	80	326
Versuch 2		271	273	410
Versuch 3	120		131	291

Die Versuche zeigen, daß CFU-E, die mit PRV-1 transfiziert waren, sehr viel mehr Kolonien (bis zu 3-fach erhöht) bilden, als die diversen Kontroll-CFU-E. Dieses Ergebnis deutet darauf hin, daß PRV-1 einen Wachstumsfaktor für CFU-E darstellt.

Beispiel 3

Löslichkeit des Wachstumsfaktors PRV-1

Um zu untersuchen, ob PRV-1 einen löslichen Wachstumsfaktor darstellt, oder Zell-Zell-Kontakt notwendig ist, wurde ein weiteres Experiment durchgeführt. Die "Verpackungs-Zelllinie", 293-T, produziert nicht nur nach Transfektion mit den pOS- und pKAT-Vektoren ein Retrovirus. Zusätzlich synthetisieren die 293-T-Zellen auch das von dem in pOS klonierten Gen kodierte Protein, also im vorliegenden Fall PRV-1. Ist das Genprodukt

ein lösliches Protein, wird es in das Medium, das die "Verpackungs-Zelllinie", 293-T, umgibt, sezerniert. Transfiziert man die 293-T-Zellen nur mit dem pOS-Vektor, ohne pKAT, entstehen keine Retroviren. Das Zellkultur-Medium enthält dann nur das lösliche, von den Zellen produzierte Protein. Es wird Medium von pOS-PRV-1-transfizierten Zellen, ohne Retrovirus, mit CFU-Es vermischt, und im Methylcellulose-Medium ausplattiert und die entstandenen Kolonien gezählt.

Folgende Ergebnisse wurden erzielt:

Tabelle 2: Löslichkeit von PRV-1. Die Zahlen geben jeweils die Anzahl der Kolonien an.

	Ansatz 1	Ansatz 2	Ansatz 3	Ansatz 4
	nicht transfiziert	leerer Vektor (pOS)	GFP (pOS-GFP)	PRV-1 (pOS-PRV-1)
Versuch 4		137	187	557

Auch in diesem Versuch haben CFU-E, die mit PRV-1-haltigem Medium versetzt waren, sehr viel mehr hämatopoietische Kolonien ausgebildet, als Kontroll-Zellen. Aus diesem Ergebnis kann geschlossen werden, daß PRV-1 einen löslichen Wachstumsfaktor darstellt.

Beispiel 4

PRV-1 hat auch inhibitorische, zytostatische Wirkung.

Die Versuche wurden an peripheren Blutzellen durchgeführt. Da auch in gesunden Menschen eine geringe Anzahl von Vorläuferzellen im peripheren Blut zirkuliert, können aus peripheren Blutzellen in einem geeigneten Medium (Methylcellulose) hämatopoetische Kolonien gezüchtet werden. Einem gesunden Spender wurden 40 ml peripheres, venöses Blut entnommen (unter Vorlage von Heparin oder EDTA als Anti-Koagulans). Das Blut wurde mit 15 ml Ficoll/Hypaque versetzt

und 40 Minuten bei 1600 rpm ohne Bremse zentrifugiert. Dadurch wird ein Dichtegradient erzeugt, der das Blut in seine zellulären Bestandteile auftrennt. Die sogenannten "mononukleären Zellen", unter denen sich auch die Stammzellen befinden, sind nach der Zentrifugation an der Interphase zwischen Serum und Ficoll zu finden. Diese Interphase wurde abgenommen, in PBS (isotonische Salzlösung) gewaschen. Dadurch erhält man gereinigte mononukleäre Zellen, in denen sich ungefähr 0,1% hämatopoietische Stammzellen befinden.

Die mononukleären Zellen wurden in einem besonders reichhaltigen Medium (IMDM), welches mit 3% FCS (fötalem Kälberserum) versetzt war, aufgenommen. Dieses 3%FCS/IMDM hat im weiteren die Modifikationen enthalten, das heißt, es war entweder mit PRV-1 versetzt oder nicht.

Die mononukleären Zellen in IMDM wurden in einer Dichte von 7×10^5 Zellen/ml zu einem käuflich erhältlichen Medium der Firma Stem Cell Technologies gegeben (Methocult), welches IMDM und 30% FCS, 1% BSA (Bovine Serum Albumin), Mercaptoethanol, 2 mM L-Glutamin, 3 IU EPO (Erythropoietin)/ml und 1,0% Methylcellulose enthielt. In diesem Medium wuchsen die Zellen 14 Tage. Die wenigen, in diesem Gemisch enthaltenen Stammzellen können sich zu hämatopoietischen Kolonien entwickeln. Pro angesetzten 7×10^5 Zellen entwickeln sich üblicherweise zwischen 100 und 200 hämatopoietische Kolonien.

Es wurde auch eine Zelllinie konstruiert, die eine sehr hohe Menge an PRV-1 exprimiert. Das PRV-1, welches von diesen Zellen produziert wird, ist derart verändert, daß es keinen Lipidanker mehr besitzt. Das Expressionsprodukt besteht aus den Aminosäuren 1-401 der Sequenz SEQ ID NO:2, es fehlen also die Aminosäuren 402-437. Dieses veränderte PRV-1 wird daher nicht, wie Wildtyp-PRV-1, mittels eines Lipidankers in die Zellmembran eingebaut, sondern wird vollständig aus den Zellen sezerniert. Bei der Zelllinie handelte es sich wie in Beispiel 3 um 293-Zellen, die kein Retrovirus produzieren, aber Protein (PRV-1) exprimieren.

Für die hämatopoietischen Kolonie-Assays wurden nun die mononukleären Blutzellen entweder in IMDM-Medium, welches 48 Stunden mit nicht transfizierten Zellen (293) inkubiert worden war, aufgenommen, oder in Medium, welches 48 Stunden mit Zellen, die das veränderte PRV-1 exprimierten (293-GPI-less-PRV-1), inkubiert worden war. Dann wurde die Fähigkeit dieser Zellen, hämatopoietische Kolonien auszubilden, untersucht. Nach 14 Tagen wurde die Zahl der erythroiden (roten) und myeloiden (weißen) Blutzellkolonien bestimmt. Der Versuch wurde dreifach wiederholt, sowie an unterschiedlichen Tagen und mit unterschiedlichen Blutspendern durchgeführt. Zudem wurden innerhalb des Versuchs Duplikate ausgewertet. Folgende Ergebnisse wurden erhalten:

Versuch 1

Zellüberstand	Spender 1		Spender 2	
	Rote Kolonien	Weiß Kolonien	Rote Kolonien	Weiß Kolonien
293	248/221	70/114	127/161	25/66
293-GPI-less-PRV-1	7/3	0/0	31/19	0/0

Versuch 2

Zellüberstand	Spender 1		Spender 2	
	Rote Kolonien	Weiß Kolonien	Rote Kolonien	Weiß Kolonien
293	99/91	20/19	49/33	8/1
293-GPI-less-PRV-1	0/0	0/0	0/0	0/0

Versuch 3

Zellüberstand	Spender 1		Spender 2	
	Rote Kolonien	Weiße Kolonien	Rote Kolonien	Weiße Kolonien
293	107/207	22/30	24/32	5/8
293-GPI-less-PRV-1	4/3	0/6	0/1	3/0

Aus diesen Daten kann geschlossen werden, daß eine höhere Dosis an PRV-1, als sie in Beispiel 3 eingesetzt wurde, zytostatische Wirkung besitzt.

Beispiel 5

Der Wachstumsfaktor PRV-1 ist N-glycosyliert

Aus einer Patientin mit P. vera wurden Granulozyten isoliert und aus diesen Zellen mittels Standardprotokoll Proteinextrakte angefertigt. Diese Proteinextrakte wurden nach dem Protokoll des "N-Glycosidase F Deglycosylation Kits" der Firma Boehringer Mannheim behandelt. Im einzelnen bedeutet dies, daß die Proteinextrakte mit einem "Denaturierungs Puffer" versetzt wurden, 3 Minuten bei 95°C erhitzt wurden und dann entweder nur mit "Reaktions Puffer" oder mit "Reaktions Puffer" plus N-Glycosidase versetzt wurden. Der Ansatz wurde über Nacht bei 37°C inkubiert und die Proteine auf einer PAGE-Gel Elektrophorese mit anschließendem Western Blot analysiert. Das PRV-1 Protein wurde mit einem Antikörper gegen ein Protein mit der Aminosäuresequenz ID-No. 5 detektiert. Die Ergebnisse zeigen, daß aus Granulozyten gereinigtes PRV-1 Protein 60-65 kDa groß ist, während es nach N-Glycosidase-Verdau nur noch 40 kDa groß ist. Dies beweist eindeutig, daß PRV-1 an Asparagin-Resten (Asparagin = N) glycosyliert ist.

Patentansprüche

1. N-glycosyliertes Polypeptid umfassend im wesentlichen eine der folgenden Aminosäuresequenzen:

Aminosäuren 1-437 von Sequenz Nr. 2;
Aminosäuren 1-409 von Sequenz Nr. 2;
Aminosäuren 1-401 von Sequenz Nr. 2;
Aminosäuren 22-437 von Sequenz Nr. 2;
Aminosäuren 22-409 von Sequenz Nr. 2;
Aminosäuren 22-401 von Sequenz Nr. 2;

oder ein Fragment davon mit wenigstens 50 Aminosäuren.

2. Polypeptid im wesentlichen bestehend aus einer der folgenden Aminosäuresequenzen:

Aminosäuren 1-409 von Sequenz Nr. 2;
Aminosäuren 1-401 von Sequenz Nr. 2;
Aminosäuren 22-409 von Sequenz Nr. 2;
Aminosäuren 22-401 von Sequenz Nr. 2.

3. Antikörper gegen ein Polypeptid nach Anspruch 1.
4. Antikörper nach Anspruch 3, dadurch gekennzeichnet, daß es ein monoklonaler Antikörper ist.
5. Verfahren zum Nachweis von Polycythaemia vera, dadurch gekennzeichnet, daß man das PRV-1-Polypeptid mit einem oder mehreren Antikörpern nach Anspruch 3 oder 4 in einem Immunoassay umsetzt.
6. Verfahren nach Anspruch 5, dadurch gekennzeichnet, daß man als Antikörper einen polyklonalen oder monoklonalen Antikörper nach Anspruch 3 oder 4 verwendet.

7. Arzneimittel zur Behandlung von Polycythaemia vera, dadurch gekennzeichnet, daß es neben üblichen Trägern Antikörper nach Anspruch 3 oder 4 enthält.
8. Arzneimittel enthaltend ein Polypeptid nach Anspruch 1 oder ein Polypeptid umfassend im wesentlichen eine der folgenden Aminosäuresequenzen:
- Aminosäuren 1-437 von Sequenz Nr. 2;
 - Aminosäuren 1-409 von Sequenz Nr. 2;
 - Aminosäuren 1-401 von Sequenz Nr. 2;
 - Aminosäuren 22-437 von Sequenz Nr. 2;
 - Aminosäuren 22-409 von Sequenz Nr. 2;
 - Aminosäuren 22-401 von Sequenz Nr. 2;
- und wenigstens einen pharmazeutisch verträglichen Träger.
9. Arzneimittel enthaltend ein Polynucleotid umfassend im wesentlichen eine der folgenden Nucleotidsequenzen:
- Nucleotide 1-1600 von Sequenz Nr. 1;
 - Nucleotide 36-1346 von Sequenz Nr. 1;
 - Nucleotide 36-1262 von Sequenz Nr. 1;
 - Nucleotide 36-1238 von Sequenz Nr. 1;
 - Nucleotide 39-1346 von Sequenz Nr. 1;
 - Nucleotide 39-1262 von Sequenz Nr. 1;
 - Nucleotide 39-1238 von Sequenz Nr. 1;
 - Nucleotide 99-1346 von Sequenz Nr. 1;
 - Nucleotide 99-1262 von Sequenz Nr. 1;
 - Nucleotide 99-1238 von Sequenz Nr. 1;
- und wenigstens einen pharmazeutisch verträglichen Träger.
10. Verwendung eines Polypeptids nach Anspruch 1 oder eines Polypeptids umfassend im wesentlichen eine der folgenden Aminosäuresequenzen:
- Aminosäuren 1-437 von Sequenz Nr. 2;
 - Aminosäuren 1-409 von Sequenz Nr. 2;
 - Aminosäuren 1-401 von Sequenz Nr. 2;
 - Aminosäuren 22-437 von Sequenz Nr. 2;
 - Aminosäuren 22-409 von Sequenz Nr. 2;
 - Aminosäuren 22-401 von Sequenz Nr. 2;

oder eines biologisch aktiven Fragments davon oder einer biologisch aktiven Variante davon als Wachstumsfaktor.

11. Verwendung eines Polypeptids nach Anspruch 1 oder eines Polypeptids umfassend im wesentlichen eine der folgenden Aminosäuresequenzen:

Aminosäuren 1-437 von Sequenz Nr. 2;
Aminosäuren 1-409 von Sequenz Nr. 2;
Aminosäuren 1-401 von Sequenz Nr. 2;
Aminosäuren 22-437 von Sequenz Nr. 2;
Aminosäuren 22-409 von Sequenz Nr. 2;
Aminosäuren 22-401 von Sequenz Nr. 2;

oder eines biologisch aktiven Fragments davon oder einer biologisch aktiven Variante davon zur Herstellung eines Arzneimittels zur Behandlung von pan-Zytopenien und pan-Zytopathien im Knochenmark und in der Zirkulation.

12. Verwendung eines Polynucleotids umfassend im wesentlichen eine der folgenden Nucleotidsequenzen:

Nucleotide 1-1600 von Sequenz Nr. 1;
Nucleotide 36-1346 von Sequenz Nr. 1;
Nucleotide 36-1262 von Sequenz Nr. 1;
Nucleotide 36-1238 von Sequenz Nr. 1;
Nucleotide 39-1346 von Sequenz Nr. 1;
Nucleotide 39-1262 von Sequenz Nr. 1;
Nucleotide 39-1238 von Sequenz Nr. 1;
Nucleotide 99-1346 von Sequenz Nr. 1;
Nucleotide 99-1262 von Sequenz Nr. 1;
Nucleotide 99-1238 von Sequenz Nr. 1;

oder eines Fragments davon oder einer Variante davon zur Herstellung eines Arzneimittels zur Behandlung von pan-Zytopenien und pan-Zytopathien im Knochenmark und in der Zirkulation.

13. Verwendung eines Polypeptids nach Anspruch 1 oder eines Polypeptids umfassend im wesentlichen eine der folgenden Aminosäuresequenzen:

Aminosäuren 1-437 von Sequenz Nr. 2;
Aminosäuren 1-409 von Sequenz Nr. 2;
Aminosäuren 1-401 von Sequenz Nr. 2;
Aminosäuren 22-437 von Sequenz Nr. 2;
Aminosäuren 22-409 von Sequenz Nr. 2;
Aminosäuren 22-401 von Sequenz Nr. 2;

oder eines biologisch aktiven Fragments davon oder einer biologisch aktiven Variante davon zur Behandlung und/oder Vermehrung körpereigener Zellen und/oder etablierter Zelllinien ex vivo oder in vitro.

14. Verwendung eines Polypeptids nach Anspruch 1 oder eines Polypeptids umfassend im wesentlichen eine der folgenden Aminosäuresequenzen:

Aminosäuren 1-437 von Sequenz Nr. 2;
Aminosäuren 1-409 von Sequenz Nr. 2;
Aminosäuren 1-401 von Sequenz Nr. 2;
Aminosäuren 22-437 von Sequenz Nr. 2;
Aminosäuren 22-409 von Sequenz Nr. 2;
Aminosäuren 22-401 von Sequenz Nr. 2;

oder eines biologisch aktiven Fragments davon oder einer biologisch aktiven Variante davon zur Hemmung des Wachstums von Zellen.

15. Verwendung nach Anspruch 14, dadurch gekennzeichnet, daß das Polypeptid als Zytostatikum verwendet wird.

16. Verwendung eines Polypeptids nach Anspruch 1 oder eines Polypeptids umfassend im wesentlichen eine der folgenden Aminosäuresequenzen:

Aminosäuren 1-437 von Sequenz Nr. 2;
Aminosäuren 1-409 von Sequenz Nr. 2;
Aminosäuren 1-401 von Sequenz Nr. 2;
Aminosäuren 22-437 von Sequenz Nr. 2;
Aminosäuren 22-409 von Sequenz Nr. 2;
Aminosäuren 22-401 von Sequenz Nr. 2;

oder eines biologisch aktiven Fragments davon oder einer biologisch aktiven Variante davon zur Herstellung eines Arzneimittels zur Behandlung proliferativer Erkrankungen.

17. Verwendung nach Anspruch 16, dadurch gekennzeichnet, daß die proliferative Erkrankung ausgewählt ist aus der Gruppe umfassend myeloproliferative Erkrankungen, P. vera, Essentielle Thrombozythämie, Myelofibrose, CML, sämtliche Leukämien und Lymphome sowie solide Tumoren.

18. Verwendung eines Polynucleotids umfassend im wesentlichen eine der folgenden Nucleotidsequenzen:

Nucleotide 1-1600 von Sequenz Nr. 1;
Nucleotide 36-1346 von Sequenz Nr. 1;
Nucleotide 36-1262 von Sequenz Nr. 1;
Nucleotide 36-1238 von Sequenz Nr. 1;
Nucleotide 39-1346 von Sequenz Nr. 1;
Nucleotide 39-1262 von Sequenz Nr. 1;
Nucleotide 39-1238 von Sequenz Nr. 1;
Nucleotide 99-1346 von Sequenz Nr. 1;
Nucleotide 99-1262 von Sequenz Nr. 1;
Nucleotide 99-1238 von Sequenz Nr. 1;

oder eines Fragments davon oder einer Variante davon zur Hemmung des Wachstums von Zellen.

19. Verwendung eines Polynucleotids umfassend im wesentlichen eine der folgenden Nucleotidsequenzen:

Nucleotide 1-1600 von Sequenz Nr. 1;
Nucleotide 36-1346 von Sequenz Nr. 1;
Nucleotide 36-1262 von Sequenz Nr. 1;
Nucleotide 36-1238 von Sequenz Nr. 1;
Nucleotide 39-1346 von Sequenz Nr. 1;
Nucleotide 39-1262 von Sequenz Nr. 1;
Nucleotide 39-1238 von Sequenz Nr. 1;
Nucleotide 99-1346 von Sequenz Nr. 1;
Nucleotide 99-1262 von Sequenz Nr. 1;
Nucleotide 99-1238 von Sequenz Nr. 1;

oder eines Fragments davon oder einer Variante davon zur Herstellung eines Arzneimittels zur Behandlung proliferativer Erkrankungen.

20. Verwendung nach Anspruch 19, dadurch gekennzeichnet, daß die proliferative Erkrankung ausgewählt ist aus der Gruppe umfassend myeloproliferative Erkrankungen, P. vera, Essentielle Thrombozythämie, Myelofibrose, CML, sämtliche Leukämien und Lymphome sowie solide Tumoren.

21. Kit zum Nachweis von Polycythaemia vera oder von Störungen des hämatopoietischen Systems enthaltend wenigstens ein Polynucleotid umfassend im wesentlichen eine der folgenden Nucleotidsequenzen:

Nucleotide 1-1600 von Sequenz Nr. 1;

Nucleotide 36-1346 von Sequenz Nr. 1;

Nucleotide 36-1262 von Sequenz Nr. 1;

Nucleotide 36-1238 von Sequenz Nr. 1;

Nucleotide 39-1346 von Sequenz Nr. 1;

Nucleotide 39-1262 von Sequenz Nr. 1;

Nucleotide 39-1238 von Sequenz Nr. 1;

Nucleotide 99-1346 von Sequenz Nr. 1;

Nucleotide 99-1262 von Sequenz Nr. 1;

Nucleotide 99-1238 von Sequenz Nr. 1;

oder ein Fragment davon oder eine Variante davon
und/oder

wenigstens ein Polypeptid nach Anspruch 1 oder ein Polypeptid umfassend im wesentlichen eine der folgenden Aminosäuresequenzen:

Aminosäuren 1-437 von Sequenz Nr. 2;

Aminosäuren 1-409 von Sequenz Nr. 2;

Aminosäuren 1-401 von Sequenz Nr. 2;

Aminosäuren 22-437 von Sequenz Nr. 2;

Aminosäuren 22-409 von Sequenz Nr. 2;

Aminosäuren 22-401 von Sequenz Nr. 2;

oder ein biologisch aktives Fragment davon oder eine biologisch aktive Variante davon

und/oder
wenigstens einen Antikörper nach Anspruch 3 oder 4.

22. Kit zur Detektion des PRV-1 Proteins nach Anspruch 21, dadurch gekennzeichnet, daß es ein ELISA Test Kit ist.
23. Kit nach Anspruch 21 zur Detektion der PRV-1 mRNA, dadurch gekennzeichnet, daß es ein semi-quantitatives oder quantitatives RT-PCR Analyse-Kit ist.
24. Kit nach Anspruch 21 zur Detektion der PRV-1 mRNA, dadurch gekennzeichnet, daß es ein Northern Blot-Kit ist.



AAAAGCAGAAAGAGATTACCAGCCACAGACGGGTCATGAGCGCGGTATTACTGCTGGCCCTCC
TGGGGTTTCATCCTCCCCTGCCAGGAGTGCAGGCGCTGCTCTGCCAGTTTGGGACAGTTCAGC
ATGTGTGGAAGGTGTCCGACCTGCCCCGGCAATGGACCCCTAAGAACACCAGCTGCGACAGCG
GCTTGGGGTGCCAGGACACGTTGATGCTCATTGAGAGCGGACCCCAAGTGAGCCTGGTGCTCT
CCAAGGGCTGCACGGAGGCCAAGGACCAGGAGCCCCGCGTCACTGAGCACCGGATGGGCCCCG
GCCTCTCCCTGATCTCCTACACCTTCGTGTGCCGCCAGGAGGACTTCTGCAACAACCTCGTTA
ACTCCCTCCCGCTTTGGGCCCCACAGCCCCCAGCAGACCCAGGATCCTTGAGGTGCCCAGTCT
GCTTGTCTATGGAAGGCTGTCTGGAGGGGACAACAGAAGAGATCTGCCCCAAGGGGACCACAC
ACTGTTATGATGGCCTCCTCAGGCTCAGGGGAGGAGGCATCTTCTCCAATCTGAGAGTCCAGG
GATGCATGCCCCAGCCAGGTTGCAACCTGCTCAATGGGACACAGGAAATTGGGCCCCGTGGGTA
TGACTGAGAACTGCAATAGGAAAGATTTTCTGACCTGTCATCGGGGGACCACATTATGACAC
ACGGAAACTTGCTCAAGAACCCACTGATTGGACCACATCGAATACCGAGATGTGCGAGGTGG
GGCAGGTGTGTCAGGAGACGCTGCTGCTCATAGATGTAGGACTCACATCAACCCTGGTGGGGA
CAAAAGGCTGCAGCACTGTTGGGGCTCAAAATTCCAGAAAGACCACCATCCACTCAGCCCCCTC
CTGGGGTGCTTGTGGCCTCCTATACCCACTTCTGCTCCTCGGACCTGTGCAATAGTGCCAGCA
GCAGCAGCGTTCTGCTGAACTCCCTCCCTCCTCAAGCTGCCCCCTGTCCCAGGAGACCGGCAGT
GTCCTACCTGTGTGCAGCCCCCTTGGAACCTGTTCAAGTGGCTCCCCCGAATGACCTGCCCCA
GGGGCGCCACTCATTGTTATGATGGGTACATTCATCTCTCAGGAGGTGGGCTGTCCACCAAAA
TGAGCATTCAAGGGCTGCGTGGCCCAACCTTCCAGCTTCTTGTGAACCACACCAGACAAATCG
GGATCTTCTCTGCGCGTGAGAAGCGTGATGTGCAGCCTCCTGCCTCTCAGCATGAGGGAGGTG
GGGCTGAGGGCCTGGAGTCTCTCACTTGGGGGGTGGGGCTGGCACTGGCCCCAGCGCTGTGGT
GGGGAGTGGTTTGCCCTTCCTGCTAACTCTATTACCCCCACGATTCTTCACCGCTGCTGACCA
CCCACACTCAACCTCCCTCTGACCTCATAACCTAATGGCCTTGGACACCAGATTCTTTCCCAT
TCTGTCCATGAATCATCTTCCCCACACACAATCATTATCTACTCACCTAACAGCAACACT
GGGGAGAGCCTGGAGCATCCGGACTTGCCCTATGGGAGAGGGGACGCTGGAGGAGTGGCTGCA
TGTATCTGATAATACAGACCCTGTC

Fig. 1



MSAVLLLALLGFILPLPGVQA---LLCQFGTVQHVWKVSDLPRQWTPKNTSCD
SGLGCQDTLMLIESGPQVSLVLSKGCTEAKDQEPRVTEHRMGPGLSLISY
TFVCRQEDFCNNLVNSLPLWAPQPPADPGSLRCPVCLSMEGCLEGTTEEI
CPKGTTHCYDGLLRRLRGGGIFSNLRVQGCMPPQGCNLLNGTQEIGPVGMT
ENCNRKDFLTCHRGTTIMTHGNLAQEPTDWTTSENTEMCEVGQVCQETLLL
IDVGLTSTLVGTKGCSTVGAQNSQKTTIHSAPPGVLVASYTHFCSSDLN
SASSSSVLLNSLPPQAAPVPGDRQCPTCVQPLGTCSSGSPRMTCPRGATH
CYDGYIHLSGGGLSTKMSIQGCVAQPSSFLLNHTRQIGIFSAREKRDVQP
PASQHEGGGAEGLES LTWGVGLALAPALWWGVVCPSC

Fig. 2



SEQUENZPROTOKOLL

<110> Universitätsklinikum Freiburg

<120> Das Gen PRV-1 und dessen Verwendung

<130> E980930

<140>

<141>

<150> DE 199 47 010.3

<151> 1999-09-30

<160> 10

<170> PADAT Sequenzmodul, Version 1.0



<210> 1
<211> 1600
<212> DNA
<213> homo sapiens

<220>
<223>

<400> 1

aaaagcagaa agagattacc agccacagac gggtcattgag cgcggtatta ctgctggccc	60
tcctgggggtt catcctccca ctgccaggag tgcaggcgct gctctgccag tttgggacag	120
ttcagcatgt gtggaagggtg tccgacctgc cccggcaatg gaccacctaa aacaccagct	180
gcgacagcgg cttgggggtgc caggacacgt tgatgctcat tgagagcggg cccaagtga	240
gcctggtgct ctccaagggtg tgcacggagg ccaaggacca ggagccccgc gtcactgagc	300
accggatggg ccccgccctc tccctgatct cctacacctt cgtgtgccgc caggaggact	360
tctgcaacaa cctcggttaac tccctccccg tttgggcccc acagccccca gcagaccag	420
gatccttgag gtgccagtc tgcttgtcta tggaaggctg tctggagggg acaacagaag	480
agatctgccc caaggggacc acacactgtt atgatggcct cctcaggctc aggggaggag	540
gcattctctc caatctgaga gtccagggat gcatgccccg gccagggtgc aacctgctca	600
atgggacaca ggaaattggg cccgtgggta tgactgagaa ctgcaatagg aaagattttc	660
tgacctgtca tcgggggacc accattatga cacacggaaa cttgggtcaa gaaccactg	720
attggaccac atcgaatacc gagatgtgcg aggtggggca ggtgtgtcag gagacgctgc	780
tgctcataga tgtaggactc acatcaacct tgggtggggac aaaaggctgc agcactgttg	840
gggtcaaaa ttcccagaag accaccatcc actcagcccc tcctgggggtg cttgtggcct	900
cctataccca cttctgctcc tcggacctgt gcaatagtgc cagcagcagc agcgttctgc	960
tgaactcect cctcctcaa gctgcccctg tcccaggaga ccggcagtgt cctacctgtg	1020
tgcagcccct tggaacctgt tcaagtggct cccccgaat gacctgcccc aggggagcca	1080
ctcattgtta tgatgggtac attcatctct caggaggtgg gctgtccacc aaaatgagca	1140
ttcagggtg cgtggcccaa ccttccagct tcttgttgaa ccacaccaga caaatcgga	1200
tcttctctgc gcgtgagaag cgtgatgtgc agcctcctgc ctctcagcat gagggaggtg	1260
gggctgaggg cctggagtct ctcacttggg ggggtggggct ggcactggcc ccagcgtgt	1320



```

gggtgggggagt ggtttgcctt tctgtetaac tctattaccc ccacgattct tcaccgctgc      1380
tgaccaccca cactcaacct cctctgacc tcataaccta atggccttgg acaccagatt      1440
ctttcccatt ctgtccatga atcatcttcc ccacacacaa tcattcatat ctactcacct      1500
aacagcaaca ctggggagag cctggagcat ccggacttgc cctatgggag aggggacgct      1560
ggaggagtgg ctgcatgtat ctgataatac agaccctgtc      1600

```

```

<210> 2
<211> 437
<212> PRT
<213> homo sapiens

```

```

<400> 2

```

```

Met Ser Ala Val Leu Leu Leu Ala Leu Leu Gly Phe Ile Leu Pro Leu
 1      5      10
Pro Gly Val Gln Ala Leu Leu Cys Gln Phe Gly Thr Val Gln His Val
      20      25      30
Trp Lys Val Ser Asp Leu Pro Arg Gln Trp Thr Pro Lys Asn Thr Ser
      35      40      45
Cys Asp Ser Gly Leu Gly Cys Gln Asp Thr Leu Met Leu Ile Glu Ser
      50      55      60
Gly Pro Gln Val Ser Leu Val Leu Ser Lys Gly Cys Thr Glu Ala Lys
      65      70      75      80
Asp Gln Glu Pro Arg Val Thr Glu His Arg Met Gly Pro Gly Leu Ser
      85      90      95
Leu Ile Ser Tyr Thr Phe Val Cys Arg Gln Glu Asp Phe Cys Asn Asn
      100      105      110
Leu Val Asn Ser Leu Pro Leu Trp Ala Pro Gln Pro Pro Ala Asp Pro
      115      120      125
Gly Ser Leu Arg Cys Pro Val Cys Leu Ser Met Glu Gly Cys Leu Glu
      130      135      140
Gly Thr Thr Glu Glu Ile Cys Pro Lys Gly Thr Thr His Cys Tyr Asp
      145      150      155      160
Gly Leu Leu Arg Leu Arg Gly Gly Gly Ile Phe Ser Asn Leu Arg Val
      165      170      175
Gln Gly Cys Met Pro Gln Pro Gly Cys Asn Leu Leu Asn Gly Thr Gln
      180      185      190
Glu Ile Gly Pro Val Gly Met Thr Glu Asn Cys Asn Arg Lys Asp Phe
      195      200      205
Leu Thr Cys His Arg Gly Thr Thr Ile Met Thr His Gly Asn Leu Ala
      210      215      220
Gln Glu Pro Thr Asp Trp Thr Thr Ser Asn Thr Glu Met Cys Glu Val
      225      230      235      240
Gly Gln Val Cys Gln Glu Thr Leu Leu Leu Ile Asp Val Gly Leu Thr
      245      250      255
Ser Thr Leu Val Gly Thr Lys Gly Cys Ser Thr Val Gly Ala Gln Asn
      260      265      270

```



[illegible]



<210> 3
<211> 24
<212> RNA
<213> künstliche Sequenz

<220>
<223> 5'-Ende der PRV-1-Sequenz

<400> 3

aaaagcagaa agagattacc agcc

24

<210> 4
<211> 24
<212> RNA
<213> künstliche Sequenz

<220>
<223> Antisense-Molekül

<400> 4

ggctggtaat ctctttctgc tttt

24

<210> 5
<211> 13
<212> PRT
<213> künstliche Sequenz

<220>
<223> Aminosäuren 34-46 von PRV-1

<400> 5

Lys Val Ser Asp Leu Pro Arg Gln Trp Thr Pro Lys Asn
1 5 10



<210> 6
<211> 15
<212> PRT
<213> künstliche Sequenz

<220>
<223> Aminosäuren 391-405 von PRV-1

<400> 6

Ser	Ala	Arg	Glu	Lys	Arg	Asp	Val	Gln	Pro	Pro	Ala	Ser	Gln	His
1				5					10					15

<210> 7
<211> 27
<212> DNA
<213> künstliche Sequenz

<220>
<223> RT-Primer

<400> 7

attaggttat gaggtcagag ggaggtt

27

<210> 8
<211> 28
<212> DNA
<213> künstliche Sequenz

<220>
<223> sense-Primer

<400> 8

gcagaaagag attaccagcc acagacgg

28



<210> 9
<211> 28
<212> DNA
<213> künstliche Sequenz

<220>
<223> antisense-Primer

<400> 9

gaatcgtggg ggtaatagag ttagcagg

28

<210> 10
<211> 29
<212> DNA
<213> künstliche Sequenz

<220>
<223> probe

<400> 10

ttcttggtga accacaccag acaaatcgg

29



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Int. Patent Application No.
PCT 00/09594

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

IPC 7 C12N15/12 C12N15/11 C07K14/475 C07K16/22 G01N33/68
G01N33/577 C12Q1/68 A61K31/713 A61K38/18

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

IPC 7 C12N C07K G01N C12Q A61K

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)

STRAND, EPO-Internal, WPI Data, BIOSIS

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	<p>TEMERINAC S ET AL: "CLONING OF PRV-1, A NOVEL MEMBER OF THE UPAR RECEPTOR SUPERFAMILY WHICH IS OVEREXPRESSED IN POLYCYTHEMIA VERA" BLOOD, US, W.B. SAUNDERS, PHILADELPHIA, VA, vol. 92, no. 10, SUPPL. 01, 15 November 1998 (1998-11-15), pages 426A-Abstr1760, XP000867771 ISSN: 0006-4971 abstract</p>	1-9, 13, 21-24
X	<p>WO 98 50552 A (ZYMOGENETICS INC) 12 November 1998 (1998-11-12) cited in the application page 81 -page 84; claim 16</p>	1-9

☒ Further documents are listed in the continuation of box C.

☒ Patent family members are listed in annex.

* Special categories of cited documents:

A document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

E earlier document but published on or after the international filing date

L document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

O document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

P document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

T later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

X document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

Y document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.

Z document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

13 February 2001

Date of mailing of the international search report

23/02/2001

Name and mailing address of the ISA

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Blanco Urgoiti, B

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No

PO/EP 00/09594

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
P,X, L	WO 00 24886 A (PAHL HEIKE ;UNIVERSITAETSKLINIKUM FREIBURG (DE)) 4 May 2000 (2000-05-04) the whole document (L: Prioritet)	1-13, 21-24
P,X	WO 99 63088 A (BAKER KEVIN ;CHEN JIAN (US); GENENTECH INC (US); YUAN JEAN (US); G) 9 December 1999 (1999-12-09) figures 249,250	1-4,8,9
P,X	WO 00 36102 A (FERRARA NAPOLEONE ;STEWART TIMOTHY A (US); DESNOYERS LUC (US); GAO) 22 June 2000 (2000-06-22) - claim 2; figure 10	1-4,8,9
P,X	TEMERINAC SNEZANA ET AL: "Cloning of PRV-1, a novel member of the uPAR receptor superfamily, which is overexpressed in polycythemia rubra vera." BLOOD, vol. 95, no. 8, 15 April 2000 (2000-04-15), pages 2569-2576, XP002159981 ISSN: 0006-4971 the whole document	1-9,13, 21-24

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

Int. Application No

PCT/EP 00/09594

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 9850552 A	12-11-1998	AU 7480198 A EP 0991757 A	27-11-1998 12-04-2000
WO 0024886 A	04-05-2000	DE 19849044 A AU 6088399 A	27-04-2000 15-05-2000
WO 9963088 A	09-12-1999	AU 4328699 A AU 2212299 A WO 9935170 A	20-12-1999 26-07-1999 15-07-1999
WO 0036102 A	22-06-2000	AU 1932000 A AU 1748200 A AU 2192800 A AU 2495200 A AU 2600800 A AU 3381600 A AU 3514400 A AU 4328699 A WO 0053753 A WO 0053755 A WO 0075327 A WO 0053757 A WO 0053758 A WO 0073454 A WO 0073445 A WO 0073348 A WO 0073452 A WO 0032221 A WO 0037640 A WO 0075316 A	03-07-2000 19-06-2000 12-07-2000 28-09-2000 28-09-2000 28-09-2000 28-09-2000 20-12-1999 14-09-2000 14-09-2000 14-12-2000 14-09-2000 14-09-2000 07-12-2000 07-12-2000 07-12-2000 07-12-2000 08-06-2000 29-06-2000 14-12-2000



INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Int. Aktenzeichen

PCT/EP 00/09594

A. KLASSIFIZIERUNG DES ANMELDUNGSGEGENSTANDES

IPK 7 C12N15/12 C12N15/11 C07K14/475 C07K16/22 G01N33/68
G01N33/577 C12Q1/68 A61K31/713 A61K38/18

Nach der Internationalen Patentklassifikation (IPK) oder nach der nationalen Klassifikation und der IPK

B. RECHERCHIERTE GEBIETE

Recherchierter Mindestprüfstoff (Klassifikationssystem und Klassifikationssymbole)

IPK 7 C12N C07K G01N C12Q A61K

Recherchierte aber nicht zum Mindestprüfstoff gehörende Veröffentlichungen, soweit diese unter die recherchierten Gebiete fallen

Während der internationalen Recherche konsultierte elektronische Datenbank (Name der Datenbank und evtl. verwendete Suchbegriffe)

STRAND, EPO-Internal, WPI Data, BIOSIS

C. ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
X	TEMERINAC S ET AL: "CLONING OF PRV-1, A NOVEL MEMBER OF THE UPAR RECEPTOR SUPERFAMILY WHICH IS OVEREXPRESSED IN POLYCYTHEMIA VERA" BLOOD, US, W.B. SAUNDERS, PHILADELPHIA, VA, Bd. 92, Nr. 10, SUPPL. 01, 15. November 1998 (1998-11-15), Seiten 426A-Abstr1760, XP000867771 ISSN: 0006-4971 Zusammenfassung	1-9, 13, 21-24
X	WO 98 50552 A (ZYMOGENETICS INC) 12. November 1998 (1998-11-12) in der Anmeldung erwähnt Seite 81 -Seite 84; Anspruch 16 --- -/--	1-9



Weitere Veröffentlichungen sind der Fortsetzung von Feld C zu entnehmen



Siehe Anhang Patentfamilie

* Besondere Kategorien von angegebenen Veröffentlichungen :

A Veröffentlichung, die den allgemeinen Stand der Technik definiert, aber nicht als besonders bedeutsam anzusehen ist

E älteres Dokument, das jedoch erst am oder nach dem internationalen Anmeldedatum veröffentlicht worden ist

L Veröffentlichung, die geeignet ist, einen Prioritätsanspruch zweifelhaft erscheinen zu lassen, oder durch die das Veröffentlichungsdatum einer anderen im Recherchenbericht genannten Veröffentlichung belegt werden soll oder die aus einem anderen besonderen Grund angegeben ist (wie ausgeführt)

O Veröffentlichung, die sich auf eine mündliche Offenbarung, eine Benutzung, eine Ausstellung oder andere Maßnahmen bezieht

P Veröffentlichung, die vor dem internationalen Anmeldedatum, aber nach dem beanspruchten Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist

T Spätere Veröffentlichung, die nach dem internationalen Anmeldedatum oder dem Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist und mit der Anmeldung nicht kollidiert, sondern nur zum Verständnis des der Erfindung zugrundeliegenden Prinzips oder der ihr zugrundeliegenden Theorie angegeben ist

X Veröffentlichung von besonderer Bedeutung: die beanspruchte Erfindung kann allein aufgrund dieser Veröffentlichung nicht als neu oder auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden

Y Veröffentlichung von besonderer Bedeutung: die beanspruchte Erfindung kann nicht als auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden, wenn die Veröffentlichung mit einer oder mehreren anderen Veröffentlichungen dieser Kategorie in Verbindung gebracht wird und diese Verbindung für einen Fachmann nahelegend ist

Z Veröffentlichung, die Mitglied derselben Patentfamilie ist

Datum des Abschlusses der internationalen Recherche

13. Februar 2001

Absenddatum des internationalen Recherchenberichts

23/02/2001

Name und Postanschrift der internationalen Recherchenbehörde

Europäisches Patentamt, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
Fax: (+31-70) 340-3016

Bevollmächtigter Bediensteter

Blanco Urgoiti, B

C.(Fortsetzung) ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
P, X, L	WO 00 24886 A (PAHL HEIKE ; UNIVERSITAETSKLINIKUM FREIBURG (DE)) 4. Mai 2000 (2000-05-04) das ganze Dokument (L: Prioritet) ---	1-13, 21-24
P, X	WO 99 63088 A (BAKER KEVIN ; CHEN JIAN (US); GENENTECH INC (US); YUAN JEAN (US); G) 9. Dezember 1999 (1999-12-09) Abbildungen 249, 250 ---	1-4, 8, 9
P, X	WO 00 36102 A (FERRARA NAPOLEONE ; STEWART TIMOTHY A (US); DESNOYERS LUC (US); GAO) 22. Juni 2000 (2000-06-22) Anspruch 2; Abbildung 10 ---	1-4, 8, 9
P, X	TEMERINAC SNEZANA ET AL: "Cloning of PRV-1, a novel member of the uPAR receptor superfamily, which is overexpressed in polycythemia rubra vera." BLOOD, Bd. 95, Nr. 8, 15. April 2000 (2000-04-15), Seiten 2569-2576, XP002159981 ISSN: 0006-4971 das ganze Dokument -----	1-9, 13, 21-24

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Angaben zu Veröffentlichungen, die zu einer Patentfamilie gehören

Int. Klass. des Aktenzeichen

PCT/00/09594

Im Recherchenbericht angeführtes Patentdokument	Datum der Veröffentlichung	Mitglied(er) der Patentfamilie	Datum der Veröffentlichung
WO 9850552 A	12-11-1998	AU 7480198 A	27-11-1998
		EP 0991757 A	12-04-2000
WO 0024886 A	04-05-2000	DE 19849044 A	27-04-2000
		AU 6088399 A	15-05-2000
WO 9963088 A	09-12-1999	AU 4328699 A	20-12-1999
		AU 2212299 A	26-07-1999
		WO 9935170 A	15-07-1999
WO 0036102 A	22-06-2000	AU 1932000 A	03-07-2000
		AU 1748200 A	19-06-2000
		AU 2192800 A	12-07-2000
		AU 2495200 A	28-09-2000
		AU 2600800 A	28-09-2000
		AU 3381600 A	28-09-2000
		AU 3514400 A	28-09-2000
		AU 4328699 A	20-12-1999
		WO 0053753 A	14-09-2000
		WO 0053755 A	14-09-2000
		WO 0075327 A	14-12-2000
		WO 0053757 A	14-09-2000
		WO 0053758 A	14-09-2000
		WO 0073454 A	07-12-2000
		WO 0073445 A	07-12-2000
		WO 0073348 A	07-12-2000
		WO 0073452 A	07-12-2000
		WO 0032221 A	08-06-2000
		WO 0037640 A	29-06-2000
		WO 0075316 A	14-12-2000



1

1

Translation

PATENT COOPERATION TREATY

PCT

INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

(PCT Article 36 and Rule 70)

Applicant's or agent's file reference	FOR FURTHER ACTION See Notification of Transmittal of International Preliminary Examination Report (Form PCT/IPEA/416)	
International application No. PCT/EP00/09594	International filing date (day/month/year) 29 September 2000 (29.09.00)	Priority date (day/month/year) 30 September 1999 (30.09.99)
International Patent Classification (IPC) or national classification and IPC C12N 15/12		
Applicant UNIVERSITÄTSKLINIKUM FREIBURG		

1. This international preliminary examination report has been prepared by this International Preliminary Examining Authority and is transmitted to the applicant according to Article 36.

2. This REPORT consists of a total of 4 sheets, including this cover sheet.

☒ This report is also accompanied by ANNEXES, i.e., sheets of the description, claims and/or drawings which have been amended and are the basis for this report and/or sheets containing rectifications made before this Authority (see Rule 70.16 and Section 607 of the Administrative Instructions under the PCT).

These annexes consist of a total of 7 sheets.

3. This report contains indications relating to the following items:

- I ☒ Basis of the report
- II ☐ Priority
- III ☐ Non-establishment of opinion with regard to novelty, inventive step and industrial applicability
- IV ☐ Lack of unity of invention
- V ☒ Reasoned statement under Article 35(2) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement
- VI ☐ Certain documents cited
- VII ☐ Certain defects in the international application
- VIII ☒ Certain observations on the international application

Date of submission of the demand 27 March 2001 (27.03.01)	Date of completion of this report 03 January 2002 (03.01.2002)
Name and mailing address of the IPEA/EP	Authorized officer
Facsimile No.	Telephone No.



I. Basis of the report**1. With regard to the elements of the international application:***

- ☐ the international application as originally filed
- ☒ the description:
pages _____ 1-22 _____, as originally filed
pages _____, filed with the demand
pages _____, filed with the letter of _____
- ☐ the claims:
pages _____, as originally filed
pages _____, as amended (together with any statement under Article 19
pages _____, filed with the demand
pages _____ 1-11 _____, filed with the letter of 15 October 2001 (15.10.2001)
- ☒ the drawings:
pages _____ 1/2,2/2 _____, as originally filed
pages _____, filed with the demand
pages _____, filed with the letter of _____
- ☒ the sequence listing part of the description:
pages _____ 1-7 _____, as originally filed
pages _____, filed with the demand
pages _____, filed with the letter of _____

2. With regard to the language, all the elements marked above were available or furnished to this Authority in the language in which the international application was filed, unless otherwise indicated under this item.

These elements were available or furnished to this Authority in the following language _____ which is:

- ☐ the language of a translation furnished for the purposes of international search (under Rule 23.1(b)).
- ☐ the language of publication of the international application (under Rule 48.3(b)).
- ☐ the language of the translation furnished for the purposes of international preliminary examination (under Rule 55.2 and/or 55.3).

3. With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the international application, the international preliminary examination was carried out on the basis of the sequence listing:

- ☒ contained in the international application in written form.
- ☒ filed together with the international application in computer readable form.
- ☐ furnished subsequently to this Authority in written form.
- ☐ furnished subsequently to this Authority in computer readable form.
- ☐ The statement that the subsequently furnished written sequence listing does not go beyond the disclosure in the international application as filed has been furnished.
- ☐ The statement that the information recorded in computer readable form is identical to the written sequence listing has been furnished.

4. ☐ The amendments have resulted in the cancellation of:

- ☐ the description, pages _____
- ☐ the claims, Nos. _____
- ☐ the drawings, sheets/fig _____

5. ☐ This report has been established as if (some of) the amendments had not been made, since they have been considered to go beyond the disclosure as filed, as indicated in the Supplemental Box (Rule 70.2(c)).**

* Replacement sheets which have been furnished to the receiving Office in response to an invitation under Article 14 are referred to in this report as "originally filed" and are not annexed to this report since they do not contain amendments (Rule 70.16 and 70.17).

** Any replacement sheet containing such amendments must be referred to under item 1 and annexed to this report.



INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

International application No.

T/EP 00/09594

V. Reasoned statement under Article 35(2) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement

1. Statement

Novelty (N)	Claims	1-11	YES
	Claims		NO
Inventive step (IS)	Claims	1-11	YES
	Claims		NO
Industrial applicability (IA)	Claims	1-11	YES
	Claims		NO

2. Citations and explanations

1) Amendments

The amendments submitted with the letter of 15 October 2001 are permissible according to PCT Article 34(2) (b).

2) Novelty and inventive step

The present application pertains to a nucleotide sequence coding for the polycythaemia rubra vera (PRV-1) gene, corresponding peptide sequences, antibodies to PRV-1 polypeptides and the medical use of the substances.

Claims 1-4 pertain overall to the use of the PRV-1 polynucleotide or polypeptide to produce a drug that acts as a growth factor.

Claims 5-11 pertain generally to the use of the PRV-1 polynucleotide or polypeptide to produce a drug that acts to inhibit cell growth.

Since these specific uses of the PRV-1 polypeptide or polynucleotide are neither described in the prior



INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

International application No.

T/EP 00/09594

art nor may be deduced therefrom in an obvious manner, **Claims 1-11** are recognized to be novel and to involve an inventive step (PCT Article 33(2) and (3)).



VIII. Certain observations on the international application

The following observations on the clarity of the claims, description, and drawings or on the question whether the claims are fully supported by the description, are made:

Claims 1-11 do not meet the requirements of PCT Article 6:

The terms "comprising" and "essentially" are vague and therefore do not clearly define the scope of protection of the claims.

Moreover, the expressions "biologically active fragments" and "biologically active variant" in the use claims referring to the polypeptide and the terms "fragment" and "variant" in the use claims referring to the polynucleotide are not defined and hence unclear.



VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES PATENTWESENS

PCT

INTERNATIONALER VORLÄUFIGER PRÜFUNGSBERICHT

(Artikel 36 und Regel 70 PCT)

REC'D 07 JAN 2002

WIPO PCT

Aktenzeichen des Anmelders oder Anwalts E980930b	WEITERES VORGEHEN siehe Mitteilung über die Übersendung des internationalen vorläufigen Prüfungsberichts (Formblatt PCT/IPEA/416)	
Internationales Aktenzeichen PCT/EP00/09594	Internationales Anmeldedatum (Tag/Monat/Jahr) 29/09/2000	Prioritätsdatum (Tag/Monat/Jahr) 30/09/1999
Internationale Patentklassifikation (IPK) oder nationale Klassifikation und IPK C12N15/12		
Anmelder UNIVERSITÄTSKLINIKUM FREIBURG et al.		



- Dieser internationale vorläufige Prüfungsbericht wurde von der mit der internationalen vorläufigen Prüfung beauftragten Behörde erstellt und wird dem Anmelder gemäß Artikel 36 übermittelt.
- Dieser BERICHT umfaßt insgesamt 4 Blätter einschließlich dieses Deckblatts.

☒ Außerdem liegen dem Bericht ANLAGEN bei; dabei handelt es sich um Blätter mit Beschreibungen, Ansprüchen und/oder Zeichnungen, die geändert wurden und diesem Bericht zugrunde liegen, und/oder Blätter mit vor dieser Behörde vorgenommenen Berichtigungen (siehe Regel 70.16 und Abschnitt 607 der Verwaltungsrichtlinien zum PCT).

Diese Anlagen umfassen insgesamt 7 Blätter.

- Dieser Bericht enthält Angaben zu folgenden Punkten:

- I ☒ Grundlage des Berichts
- II ☐ Priorität
- III ☐ Keine Erstellung eines Gutachtens über Neuheit, erfinderische Tätigkeit und gewerbliche Anwendbarkeit
- IV ☐ Mangelnde Einheitlichkeit der Erfindung
- V ☒ Begründete Feststellung nach Artikel 35(2) hinsichtlich der Neuheit, der erfinderischen Tätigkeit und der gewerblichen Anwendbarkeit; Unterlagen und Erklärungen zur Stützung dieser Feststellung
- VI ☐ Bestimmte angeführte Unterlagen
- VII ☐ Bestimmte Mängel der internationalen Anmeldung
- VIII ☒ Bestimmte Bemerkungen zur internationalen Anmeldung

Datum der Einreichung des Antrags 27/03/2001	Datum der Fertigstellung dieses Berichts 03.01.2002
Name und Postanschrift der mit der internationalen vorläufigen Prüfung beauftragten Behörde:  Europäisches Patentamt D-80298 München Tel. +49 89 2399 - 0 Tx: 523656 epmu d Fax: +49 89 2399 - 4465	Bevollmächtigter Bediensteter Kalsner, I Tel. Nr. +49 89 2399 8708 



I. Grundlage des Berichts

1. Hinsichtlich der **Bestandteile** der internationalen Anmeldung (*Ersatzblätter, die dem Anmeldeamt auf eine Aufforderung nach Artikel 14 hin vorgelegt wurden, gelten im Rahmen dieses Berichts als "ursprünglich eingereicht" und sind ihm nicht beigelegt, weil sie keine Änderungen enthalten (Regeln 70.16 und 70.17)*):
Beschreibung, Seiten:

1-22 ursprüngliche Fassung

Patentansprüche, Nr.:

1-11 eingegangen am 16/10/2001 mit Schreiben vom 15/10/2001

Zeichnungen, Blätter:

1/2,2/2 ursprüngliche Fassung

Sequenzprotokoll in der Beschreibung, Seiten:

1-7, in der ursprünglich eingereichten Fassung.

2. Hinsichtlich der **Sprache**: Alle vorstehend genannten Bestandteile standen der Behörde in der Sprache, in der die internationale Anmeldung eingereicht worden ist, zur Verfügung oder wurden in dieser eingereicht, sofern unter diesem Punkt nichts anderes angegeben ist.

Die Bestandteile standen der Behörde in der Sprache: zur Verfügung bzw. wurden in dieser Sprache eingereicht; dabei handelt es sich um

- ☐ die Sprache der Übersetzung, die für die Zwecke der internationalen Recherche eingereicht worden ist (nach Regel 23.1(b)).
- ☐ die Veröffentlichungssprache der internationalen Anmeldung (nach Regel 48.3(b)).
- ☐ die Sprache der Übersetzung, die für die Zwecke der internationalen vorläufigen Prüfung eingereicht worden ist (nach Regel 55.2 und/oder 55.3).

3. Hinsichtlich der in der internationalen Anmeldung offenbarten **Nucleotid- und/oder Aminosäuresequenz** ist die internationale vorläufige Prüfung auf der Grundlage des Sequenzprotokolls durchgeführt worden, das:

- ☒ in der internationalen Anmeldung in schriftlicher Form enthalten ist.
- ☒ zusammen mit der internationalen Anmeldung in computerlesbarer Form eingereicht worden ist.
- ☐ bei der Behörde nachträglich in schriftlicher Form eingereicht worden ist.
- ☐ bei der Behörde nachträglich in computerlesbarer Form eingereicht worden ist.
- ☐ Die Erklärung, daß das nachträglich eingereichte schriftliche Sequenzprotokoll nicht über den Offenbarungsgehalt der internationalen Anmeldung im Anmeldezeitpunkt hinausgeht, wurde vorgelegt.
- ☐ Die Erklärung, daß die in computerlesbarer Form erfassten Informationen dem schriftlichen



Sequenzprotokoll entsprechen, wurde vorgelegt.

4. Aufgrund der Änderungen sind folgende Unterlagen fortgefallen:

- ☐ Beschreibung, Seiten:
- ☐ Ansprüche, Nr.:
- ☐ Zeichnungen, Blatt:

5. ☐ Dieser Bericht ist ohne Berücksichtigung (von einigen) der Änderungen erstellt worden, da diese aus den angegebenen Gründen nach Auffassung der Behörde über den Offenbarungsgehalt in der ursprünglich eingereichten Fassung hinausgehen (Regel 70.2(c)).

(Auf Ersatzblätter, die solche Änderungen enthalten, ist unter Punkt 1 hinzuweisen; sie sind diesem Bericht beizufügen).

6. Etwaige zusätzliche Bemerkungen:

V. Begründete Feststellung nach Artikel 35(2) hinsichtlich der Neuheit, der erfinderischen Tätigkeit und der gewerblichen Anwendbarkeit; Unterlagen und Erklärungen zur Stützung dieser Feststellung

1. Feststellung

Neuheit (N)	Ja: Ansprüche	1-11
	Nein: Ansprüche	
Erfinderische Tätigkeit (ET)	Ja: Ansprüche	1-11
	Nein: Ansprüche	
Gewerbliche Anwendbarkeit (GA)	Ja: Ansprüche	1-11
	Nein: Ansprüche	

2. Unterlagen und Erklärungen
siehe Beiblatt

VIII. Bestimmte Bemerkungen zur internationalen Anmeldung

Zur Klarheit der Patentansprüche, der Beschreibung und der Zeichnungen oder zu der Frage, ob die Ansprüche in vollem Umfang durch die Beschreibung gestützt werden, ist folgendes zu bemerken:
siehe Beiblatt



1) Änderungen

Die mit dem Schreiben vom 15. Oktober 2001 eingereichten Änderungen sind unter Art. 34(2)(b) PCT zulässig.

2) Neuheit und erfinderische Tätigkeit

Die vorliegende Anmeldung betrifft eine Nukleotidsequenz, die das Polycythaemia rubra vera (PRV-1) Gen kodiert, entsprechende Peptidsequenzen, Antikörper gegen PRV-1-Polypeptide sowie die medizinische Anwendung der Substanzen.

Ansprüche 1-4 beziehen sich allgemein betrachtet auf die Verwendung von PRV-1 Polynukleotid bzw Polypeptid zur Herstellung eines Arzneimittels, das als Wachstumsfaktor wirken soll.

Ansprüche 5-11 beziehen sich generell auf deren Verwendung zur Herstellung eines Arzneimittels, das hemmend auf Zellwachstum wirken soll.

Da die spezifischen Verwendungen des PRV-1 Polypeptides bzw. Polynukleotides weder im Stand der Technik beschrieben noch in offensichtlicher Weise daraus abzuleiten sind wird für **Ansprüche 1-11** Neuheit und erfinderische Tätigkeit anerkannt (Art. 33(2)(3) PCT).

Zu Abschnitt VIII: Bestimmte Bemerkungen zur internationalen Anmeldung

Ansprüche 1-11 entsprechen nicht den Erfordernissen von Art. 6 PCT:

Die Begriffe "umfassend" und "im wesentlichen" sind vage und definieren daher den Schutzzumfang der Ansprüche nicht klar.

Darüberhinaus sind auch die Begriffe "biologisch aktive Fragmente" und "biologisch aktive Variante" in den Verwendungsansprüchen des Polypeptides, bzw. die Begriffe "Fragment" und Variante" in den Verwendungsansprüchen des Polynukleotides, nicht definiert und somit unklar.



PCT/EP00/09594

Universitätsklinikum Freiburg

Patentansprüche

1. Verwendung eines N-glycosylierten Polypeptids umfassend im wesentlichen eine der folgenden Aminosäuresequenzen:

Aminosäuren 1-437 von Sequenz Nr. 2;
Aminosäuren 1-409 von Sequenz Nr. 2;
Aminosäuren 1-401 von Sequenz Nr. 2;
Aminosäuren 22-437 von Sequenz Nr. 2;
Aminosäuren 22-409 von Sequenz Nr. 2;
Aminosäuren 22-401 von Sequenz Nr. 2;

oder eines Fragments davon mit wenigstens 50 Aminosäuren oder eines Polypeptids umfassend im wesentlichen eine der folgenden Aminosäuresequenzen:

Aminosäuren 1-437 von Sequenz Nr. 2;
Aminosäuren 1-409 von Sequenz Nr. 2;
Aminosäuren 1-401 von Sequenz Nr. 2;
Aminosäuren 22-437 von Sequenz Nr. 2;
Aminosäuren 22-409 von Sequenz Nr. 2;
Aminosäuren 22-401 von Sequenz Nr. 2;

oder eines biologisch aktiven Fragments davon oder einer biologisch aktiven Variante davon zur Herstellung eines als Wachstumsfaktor wirkenden Arzneimittels.



2. Verwendung eines N-glycosylierten Polypeptids umfassend im wesentlichen eine der folgenden Aminosäuresequenzen:

Aminosäuren 1-437 von Sequenz Nr. 2;
Aminosäuren 1-409 von Sequenz Nr. 2;
Aminosäuren 1-401 von Sequenz Nr. 2;
Aminosäuren 22-437 von Sequenz Nr. 2;
Aminosäuren 22-409 von Sequenz Nr. 2;
Aminosäuren 22-401 von Sequenz Nr. 2;

oder eines Fragments davon mit wenigstens 50 Aminosäuren oder eines Polypeptids umfassend im wesentlichen eine der folgenden Aminosäuresequenzen:

Aminosäuren 1-437 von Sequenz Nr. 2;
Aminosäuren 1-409 von Sequenz Nr. 2;
Aminosäuren 1-401 von Sequenz Nr. 2;
Aminosäuren 22-437 von Sequenz Nr. 2;
Aminosäuren 22-409 von Sequenz Nr. 2;
Aminosäuren 22-401 von Sequenz Nr. 2;

oder eines biologisch aktiven Fragments davon oder einer biologisch aktiven Variante davon zur Herstellung eines Arzneimittels zur Behandlung von pan-Zytopenien und pan-Zytopathien im Knochenmark und in der Zirkulation.



3. Verwendung eines Polynucleotids umfassend im wesentlichen eine der folgenden Nucleotidsequenzen:

Nucleotide 1-1600 von Sequenz Nr. 1;
Nucleotide 36-1346 von Sequenz Nr. 1;
Nucleotide 36-1262 von Sequenz Nr. 1;
Nucleotide 36-1238 von Sequenz Nr. 1;
Nucleotide 39-1346 von Sequenz Nr. 1;
Nucleotide 39-1262 von Sequenz Nr. 1;
Nucleotide 39-1238 von Sequenz Nr. 1;
Nucleotide 99-1346 von Sequenz Nr. 1;
Nucleotide 99-1262 von Sequenz Nr. 1;
Nucleotide 99-1238 von Sequenz Nr. 1;

oder eines Fragments davon oder einer Variante davon zur Herstellung eines Arzneimittels zur Behandlung von pan-Zytopenien und pan-Zytopathien im Knochenmark und in der Zirkulation.

4. Verwendung eines N-glycosylierten Polypeptids umfassend im wesentlichen eine der folgenden Aminosäuresequenzen:

Aminosäuren 1-437 von Sequenz Nr. 2;
Aminosäuren 1-409 von Sequenz Nr. 2;
Aminosäuren 1-401 von Sequenz Nr. 2;
Aminosäuren 22-437 von Sequenz Nr. 2;
Aminosäuren 22-409 von Sequenz Nr. 2;
Aminosäuren 22-401 von Sequenz Nr. 2;

oder eines Fragments davon mit wenigstens 50 Aminosäuren oder eines Polypeptids umfassend im wesentlichen eine der folgenden Aminosäuresequenzen:

Aminosäuren 1-437 von Sequenz Nr. 2;
Aminosäuren 1-409 von Sequenz Nr. 2;
Aminosäuren 1-401 von Sequenz Nr. 2;
Aminosäuren 22-437 von Sequenz Nr. 2;
Aminosäuren 22-409 von Sequenz Nr. 2;
Aminosäuren 22-401 von Sequenz Nr. 2;



oder eines biologisch aktiven Fragments davon oder einer biologisch aktiven Variante davon zur Herstellung eines Arzneimittels zur Behandlung und/oder Vermehrung körpereigener Zellen und/oder etablierter Zelllinien ex vivo oder in vitro.

5. Verwendung eines N-glycosylierten Polypeptids umfassend im wesentlichen eine der folgenden Aminosäuresequenzen:

Aminosäuren 1-437 von Sequenz Nr. 2;
Aminosäuren 1-409 von Sequenz Nr. 2;
Aminosäuren 1-401 von Sequenz Nr. 2;
Aminosäuren 22-437 von Sequenz Nr. 2;
Aminosäuren 22-409 von Sequenz Nr. 2;
Aminosäuren 22-401 von Sequenz Nr. 2;

oder eines Fragments davon mit wenigstens 50 Aminosäuren oder eines Polypeptids umfassend im wesentlichen eine der folgenden Aminosäuresequenzen:

Aminosäuren 1-437 von Sequenz Nr. 2;
Aminosäuren 1-409 von Sequenz Nr. 2;
Aminosäuren 1-401 von Sequenz Nr. 2;
Aminosäuren 22-437 von Sequenz Nr. 2;
Aminosäuren 22-409 von Sequenz Nr. 2;
Aminosäuren 22-401 von Sequenz Nr. 2;

oder eines biologisch aktiven Fragments davon oder einer biologisch aktiven Variante davon zur Herstellung eines Arzneimittels zur Hemmung des Wachstums von Zellen.

6. Verwendung nach Anspruch 5, dadurch gekennzeichnet, daß das Polypeptid als Zytostatikum verwendet wird.



7. Verwendung eines N-glycosylierten Polypeptids umfassend im wesentlichen eine der folgenden Aminosäuresequenzen:

Aminosäuren 1-437 von Sequenz Nr. 2;
Aminosäuren 1-409 von Sequenz Nr. 2;
Aminosäuren 1-401 von Sequenz Nr. 2;
Aminosäuren 22-437 von Sequenz Nr. 2;
Aminosäuren 22-409 von Sequenz Nr. 2;
Aminosäuren 22-401 von Sequenz Nr. 2;

oder eines Fragments davon mit wenigstens 50 Aminosäuren oder eines Polypeptids umfassend im wesentlichen eine der folgenden Aminosäuresequenzen:

Aminosäuren 1-437 von Sequenz Nr. 2;
Aminosäuren 1-409 von Sequenz Nr. 2;
Aminosäuren 1-401 von Sequenz Nr. 2;
Aminosäuren 22-437 von Sequenz Nr. 2;
Aminosäuren 22-409 von Sequenz Nr. 2;
Aminosäuren 22-401 von Sequenz Nr. 2;

oder eines biologisch aktiven Fragments davon oder einer biologisch aktiven Variante davon zur Herstellung eines Arzneimittels zur Behandlung proliferativer Erkrankungen.



8. Verwendung nach Anspruch 7, dadurch gekennzeichnet, daß die proliferative Erkrankung ausgewählt ist aus der Gruppe umfassend myeloproliferative Erkrankungen, P. vera, Essentielle Thrombozythämie, Myelofibrose, CML, sämtliche Leukämien und Lymphome sowie solide Tumoren.
9. Verwendung eines Polynucleotids umfassend im wesentlichen eine der folgenden Nucleotidsequenzen:
- Nucleotide 1-1600 von Sequenz Nr. 1;
 - Nucleotide 36-1346 von Sequenz Nr. 1;
 - Nucleotide 36-1262 von Sequenz Nr. 1;
 - Nucleotide 36-1238 von Sequenz Nr. 1;
 - Nucleotide 39-1346 von Sequenz Nr. 1;
 - Nucleotide 39-1262 von Sequenz Nr. 1;
 - Nucleotide 39-1238 von Sequenz Nr. 1;
 - Nucleotide 99-1346 von Sequenz Nr. 1;
 - Nucleotide 99-1262 von Sequenz Nr. 1;
 - Nucleotide 99-1238 von Sequenz Nr. 1;
- oder eines Fragments davon oder einer Variante davon zur Hemmung des Wachstums von Zellen.
10. Verwendung eines Polynucleotids umfassend im wesentlichen eine der folgenden Nucleotidsequenzen:
- Nucleotide 1-1600 von Sequenz Nr. 1;
 - Nucleotide 36-1346 von Sequenz Nr. 1;
 - Nucleotide 36-1262 von Sequenz Nr. 1;
 - Nucleotide 36-1238 von Sequenz Nr. 1;
 - Nucleotide 39-1346 von Sequenz Nr. 1;
 - Nucleotide 39-1262 von Sequenz Nr. 1;
 - Nucleotide 39-1238 von Sequenz Nr. 1;
 - Nucleotide 99-1346 von Sequenz Nr. 1;
 - Nucleotide 99-1262 von Sequenz Nr. 1;
 - Nucleotide 99-1238 von Sequenz Nr. 1;



oder ein Fragments davon oder eine Variante davon zur Herstellung eines Arzneimittels zur Behandlung proliferativer Erkrankungen.

11. Verwendung nach Anspruch 10, dadurch gekennzeichnet, daß die proliferative Erkrankung ausgewählt ist aus der Gruppe umfassend myeloproliferative Erkrankungen, P. vera, Essentielle Thrombozythämie, Myelofibrose, CML, sämtliche Leukämien und Lymphome sowie solide Tumoren.



IN THE UNITED STATES PATENT AND TRADEMARK OFFICE

Application No. :

U.S. National Serial No. :

Filed :

PCT International Application No. : PCT/EP00/09594

VERIFICATION OF A TRANSLATION

I, Susan POTTS BA ACIS

Director to RWS Group plc, of Europa House, Marsham Way, Gerrards Cross, Buckinghamshire, England declare:

That the translator responsible for the attached translation is knowledgeable in the German language in which the below identified international application was filed, and that, to the best of RWS Group plc knowledge and belief, the English translation of the international application No. PCT/EP00/09594 is a true and complete translation of the above identified international application as filed.

I hereby declare that all the statements made herein of my own knowledge are true and that all statements made on information and belief are believed to be true; and further that these statements were made with the knowledge that willful false statements and the like so made are punishable by fine or imprisonment, or both, under Section 1001 of Title 18 of the United States Code and that such willful false statements may jeopardize the validity of the patent application issued thereon.

Date: February 25, 2002



Signature of Director :

For and on behalf of RWS Group plc

Post Office Address :

Europa House, Marsham Way,
Gerrards Cross, Buckinghamshire,
England.

Letter, dated 15.10.2001, from Lederer, Keller & Riederer, Munich, to the European Patent Office, Munich

Please deal with as a matter of urgency!

PCT
Chapter II

Re: PCT/EP00/09594
EP-A 00.972665.4
Freiburg University Hospital Complex

In reply to the written notice dated 1. October 2001:

We are glad to note that it was possible to allow novelty and an inventive step for the former claims 10-20.

We are therefore herewith submitting a set of reworked claims 1-11, which correspond to the former claims 10-20, with the request that a positive provisional International Examination Report be issued as soon as possible.

The undersigned can be contacted by telephone at any time for any consultations which may be necessary. Where appropriate, a hearing could also be arranged at short notice.

Enclosure:

Patent claims 1-11 in triplicate



• •

•

•

IN THE UNITED STATES PATENT AND TRADEMARK OFFICE

Application No. :

U.S. National Serial No. :

Filed :

PCT International Application No. : PCT/EP00/09594

VERIFICATION OF A TRANSLATION

I, Susan POTTS BA ACIS

Director to RWS Group plc, of Europa House, Marsham Way, Gerrards Cross, Buckinghamshire, England declare:

That the translator responsible for the attached translation is knowledgeable in the German language in which the below identified international application was filed, and that, to the best of RWS Group plc knowledge and belief, the English translation of the amended sheets of the international application No. PCT/EP00/09594 is a true and complete translation of the amended sheets of the above identified international application as filed.

I hereby declare that all the statements made herein of my own knowledge are true and that all statements made on information and belief are believed to be true; and further that these statements were made with the knowledge that willful false statements and the like so made are punishable by fine or imprisonment, or both, under Section 1001 of Title 18 of the United States Code and that such willful false statements may jeopardize the validity of the patent application issued thereon.

Date: February 25, 2002

Signature of Director :



For and on behalf of RWS Group plc

Post Office Address :

Europa House, Marsham Way,
Gerrards Cross, Buckinghamshire,
England.



15. Okt. 2001

PCT/EP00/09594

Freiburg University Hospital Complex

Patent Claims

5

1. The use of an N-glycosylated polypeptide which essentially comprises one of the following amino acid sequences:

10 amino acids 1-437 of sequence No. 2;
amino acids 1-409 of sequence No. 2;
amino acids 1-401 of sequence No. 2;
amino acids 22-437 of sequence No. 2;
amino acids 22-409 of sequence No. 2;
amino acids 22-401 of sequence No. 2;

15 or of a fragment thereof containing at least 50 amino acids or of a polypeptide which essentially comprises one of the following amino acid sequences:

20 amino acids 1-437 of sequence No. 2;
amino acids 1-409 of sequence No. 2;
amino acids 1-401 of sequence No. 2;
amino acids 22-437 of sequence No. 2;
amino acids 22-409 of sequence No. 2;
amino acids 22-401 of sequence No. 2;

25 or of a biologically active fragment thereof or a biologically active variant thereof, for producing a drug which acts as a growth factor.

- 30 2. The use of an N-glycosylated polypeptide which essentially comprises one of the following amino acid sequences:

35 amino acids 1-437 of sequence No. 2;
amino acids 1-409 of sequence No. 2;
amino acids 1-401 of sequence No. 2;
amino acids 22-437 of sequence No. 2;
amino acids 22-409 of sequence No. 2;
amino acids 22-401 of sequence No. 2;

or of a fragment thereof containing at least 50 amino acids or of a polypeptide which essentially



comprises one of the following amino acid sequences:

amino acids 1-437 of sequence No. 2;
amino acids 1-409 of sequence No. 2;
5 amino acids 1-401 of sequence No. 2;
amino acids 22-437 of sequence No. 2;
amino acids 22-409 of sequence No. 2;
amino acids 22-401 of sequence No. 2;

or of a biologically active fragment thereof or a
10 biologically active variant thereof, for producing
a drug for treating pancytopenias and
pancytophathies in the bone marrow and in the
circulation.

15 3. The use of a polynucleotide which essentially
comprises one of the following nucleotide
sequences:

nucleotides 1-1600 of sequence No. 1;
nucleotides 36-1346 of sequence No. 1;
20 nucleotides 36-1262 of sequence No. 1;
nucleotides 36-1238 of sequence No. 1;
nucleotides 39-1346 of sequence No. 1;
nucleotides 39-1262 of sequence No. 1;
nucleotides 39-1238 of sequence No. 1;
25 nucleotides 99-1346 of sequence No. 1;
nucleotides 99-1262 of sequence No. 1;
nucleotides 99-1238 of sequence No. 1;

or of a fragment thereof or a variant thereof, for
producing a drug for treating pancytopenias and
30 pancytopathies in the bone marrow and in the
circulation.

4. The use of an N-glycosylated polypeptide which
essentially comprises one of the following amino
35 acid sequences:

amino acids 1-437 of sequence No. 2;
amino acids 1-409 of sequence No. 2;
amino acids 1-401 of sequence No. 2;
amino acids 22-437 of sequence No. 2;



amino acids 22-409 of sequence No. 2;
amino acids 22-401 of sequence No. 2;
or of a fragment thereof containing at least 50
amino acids or of a polypeptide which essentially
comprises one of the following amino acid
sequences:

amino acids 1-437 of sequence No. 2;
amino acids 1-409 of sequence No. 2;
amino acids 1-401 of sequence No. 2;
amino acids 22-437 of sequence No. 2;
amino acids 22-409 of sequence No. 2;
amino acids 22-401 of sequence No. 2;

or of a biologically active fragment thereof or a
biologically active variant thereof, for producing
a drug for treating and/or multiplying endogenous
cells and/or established cell lines ex vivo or
in vitro.

5. The use of an N-glycosylated polypeptide which
essentially comprises one of the following amino
acid sequences:

amino acids 1-437 of sequence No. 2;
amino acids 1-409 of sequence No. 2;
amino acids 1-401 of sequence No. 2;
amino acids 22-437 of sequence No. 2;
amino acids 22-409 of sequence No. 2;
amino acids 22-401 of sequence No. 2;

or of a fragment thereof containing at least 50
amino acids or of a polypeptide which essentially
comprises one of the following amino acid
sequences:

amino acids 1-437 of sequence No. 2;
amino acids 1-409 of sequence No. 2;
amino acids 1-401 of sequence No. 2;
amino acids 22-437 of sequence No. 2;
amino acids 22-409 of sequence No. 2;
amino acids 22-401 of sequence No. 2;



or of a biologically active fragment thereof or a biologically active variant thereof, for producing a drug for inhibiting the growth of cells.

5 6. The use as claimed in claim 5, characterized in that the polypeptide is used as a cytostatic agent.

10 7. The use of an N-glycosylated polypeptide which essentially comprises one of the following amino acid sequences:

amino acids 1-437 of sequence No. 2;

amino acids 1-409 of sequence No. 2;

amino acids 1-401 of sequence No. 2;

15 amino acids 22-437 of sequence No. 2;

amino acids 22-409 of sequence No. 2;

amino acids 22-401 of sequence No. 2;

or of a fragment thereof containing at least 50 amino acids or of a polypeptide which essentially
20 comprises one of the following amino acid sequences:

amino acids 1-437 of sequence No. 2;

amino acids 1-409 of sequence No. 2;

amino acids 1-401 of sequence No. 2;

25 amino acids 22-437 of sequence No. 2;

amino acids 22-409 of sequence No. 2;

amino acids 22-401 of sequence No. 2;

or of a biologically active fragment thereof or a biologically active variant thereof, for producing
30 a drug for treating proliferative diseases.

8. The use as claimed in claim 7, characterized in that the proliferative disease is selected from the group comprising myeloproliferative diseases,
35 p. vera, essential thrombocythemia, myelofibrosis, CML, all leukemias and lymphomas and also solid tumors.



9. The use of a polynucleotide which essentially comprises one of the following nucleotide sequences:

5 nucleotides 1-1600 of sequence No. 1;
 nucleotides 36-1346 of sequence No. 1;
 nucleotides 36-1262 of sequence No. 1;
 nucleotides 36-1238 of sequence No. 1;
 nucleotides 39-1346 of sequence No. 1;
 nucleotides 39-1262 of sequence No. 1;
10 nucleotides 39-1238 of sequence No. 1;
 nucleotides 99-1346 of sequence No. 1;
 nucleotides 99-1262 of sequence No. 1;
 nucleotides 99-1238 of sequence No. 1;
15 or of a fragment thereof or a variant thereof, for
 inhibiting the growth of cells.

10. The use of a polynucleotide which essentially comprises one of the following nucleotide sequences:

20 nucleotides 1-1600 of sequence No. 1;
 nucleotides 36-1346 of sequence No. 1;
 nucleotides 36-1262 of sequence No. 1;
 nucleotides 36-1238 of sequence No. 1;
 nucleotides 39-1346 of sequence No. 1;
25 nucleotides 39-1262 of sequence No. 1;
 nucleotides 39-1238 of sequence No. 1;
 nucleotides 99-1346 of sequence No. 1;
 nucleotides 99-1262 of sequence No. 1;
 nucleotides 99-1238 of sequence No. 1;
30 or of a fragment thereof or a variant thereof, for
 producing a drug for treating proliferative
 diseases.

11. The use as claimed in claim 10, characterized in
35 that the proliferative disease is selected from
 the group comprising myeloproliferative diseases,
 p. vera, essential thrombocythemia, myelofibrosis,
 CML, all leukemias and lymphomas and also solid
 tumors.



1

2

3

VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES PATENTWESSENS

Absender: MIT DER INTERNATIONALEN VORLÄUFIGEN
PRÜFUNG BEAUFTRAGTE BEHÖRDE

An:

KELLER, Günter
LEDERER, KELLER & RIEDERER
Prinzregentenstr. 16
80538 München
ALLEMAGNE

LEDERER & KELLER
EINGANG / RECEIPT
04.01.2002

PCT

MITTEILUNG ÜBER DIE ÜBERSENDUNG
DES INTERNATIONALEN VORLÄUFIGEN
PRÜFUNGSBERICHTS
(Regel 71.1 PCT)

Absendedatum
(Tag/Monat/Jahr)

03.01.2002

Aktenzeichen des Anmelders oder Anwalts
E980930b

WICHTIGE MITTEILUNG

Internationales Aktenzeichen
PCT/EP00/09594

Internationales Anmeldedatum (Tag/Monat/Jahr)
29/09/2000

Prioritätsdatum (Tag/Monat/Jahr)
30/09/1999

Anmelder

UNIVERSITÄTSKLINIKUM FREIBURG et al.

1. Dem Anmelder wird mitgeteilt, daß ihm die mit der internationalen vorläufigen Prüfung beauftragte Behörde hiermit den zu der internationalen Anmeldung erstellten internationalen vorläufigen Prüfungsbericht, gegebenenfalls mit den dazugehörigen Anlagen, übermittelt.
2. Eine Kopie des Berichts wird - gegebenenfalls mit den dazugehörigen Anlagen - dem Internationalen Büro zur Weiterleitung an alle ausgewählten Ämter übermittelt.
3. Auf Wunsch eines ausgewählten Amtes wird das Internationale Büro eine Übersetzung des Berichts (jedoch nicht der Anlagen) ins Englische anfertigen und diesem Amt übermitteln.


4. ERINNERUNG

Zum Eintritt in die nationale Phase hat der Anmelder vor jedem ausgewählten Amt innerhalb von 30 Monaten ab dem Prioritätsdatum (oder in manchen Ämtern noch später) bestimmte Handlungen (Einreichung von Übersetzungen und Entrichtung nationaler Gebühren) vorzunehmen (Artikel 39 (1)) (siehe auch die durch das Internationale Büro im Formblatt PCT/IB/301 übermittelte Information).

Ist einem ausgewählten Amt eine Übersetzung der internationalen Anmeldung zu übermitteln, so muß diese Übersetzung auch Übersetzungen aller Anlagen zum internationalen vorläufigen Prüfungsbericht enthalten. Es ist Aufgabe des Anmelders, solche Übersetzungen anzufertigen und den betroffenen ausgewählten Ämtern direkt zuzuleiten.

Weitere Einzelheiten zu den maßgebenden Fristen und Erfordernissen der ausgewählten Ämter sind Band II des PCT-Leitfadens für Anmelder zu entnehmen.

Name und Postanschrift der mit der internationalen Prüfung beauftragten Behörde

 Europäisches Patentamt
D-80298 München
Tel. +49 89 2399 - 0 Tx: 523656 epmu d
Fax: +49 89 2399 - 4465

Bevollmächtigter Bediensteter

Büchler, S

Tel. +49 89 2399-8090





VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES PATENTWESENS

PCT

INTERNATIONALER VORLÄUFIGER PRÜFUNGSBERICHT



(Artikel 36 und Regel 70 PCT)

Aktenzeichen des Anmelders oder Anwalts E980930b	WEITERES VORGEHEN siehe Mitteilung über die Übersendung des internationalen vorläufigen Prüfungsberichts (Formblatt PCT/IPEA/416)	
Internationales Aktenzeichen PCT/EP00/09594	Internationales Anmeldedatum (Tag/Monat/Jahr) 29/09/2000	Prioritätsdatum (Tag/Monat/Jahr) 30/09/1999
Internationale Patentklassifikation (IPK) oder nationale Klassifikation und IPK C12N15/12		
Anmelder UNIVERSITÄTSKLINIKUM FREIBURG et al.		

1. Dieser internationale vorläufige Prüfungsbericht wurde von der mit der internationalen vorläufigen Prüfung beauftragten Behörde erstellt und wird dem Anmelder gemäß Artikel 36 übermittelt.
2. Dieser BERICHT umfaßt insgesamt 4 Blätter einschließlich dieses Deckblatts.
☒ Außerdem liegen dem Bericht ANLAGEN bei; dabei handelt es sich um Blätter mit Beschreibungen, Ansprüchen und/oder Zeichnungen, die geändert wurden und diesem Bericht zugrunde liegen, und/oder Blätter mit vor dieser Behörde vorgenommenen Berichtigungen (siehe Regel 70.16 und Abschnitt 607 der Verwaltungsrichtlinien zum PCT).
Diese Anlagen umfassen insgesamt 7 Blätter.

3. Dieser Bericht enthält Angaben zu folgenden Punkten:

- I ☒ Grundlage des Berichts
- II ☐ Priorität
- III ☐ Keine Erstellung eines Gutachtens über Neuheit, erfinderische Tätigkeit und gewerbliche Anwendbarkeit
- IV ☐ Mangelnde Einheitlichkeit der Erfindung
- V ☒ Begründete Feststellung nach Artikel 35(2) hinsichtlich der Neuheit, der erfinderischen Tätigkeit und der gewerblichen Anwendbarkeit; Unterlagen und Erklärungen zur Stützung dieser Feststellung
- VI ☐ Bestimmte angeführte Unterlagen
- VII ☐ Bestimmte Mängel der internationalen Anmeldung
- VIII ☒ Bestimmte Bemerkungen zur internationalen Anmeldung

Datum der Einreichung des Antrags 27/03/2001	Datum der Fertigstellung dieses Berichts 03.01.2002
Name und Postanschrift der mit der internationalen vorläufigen Prüfung beauftragten Behörde:  Europäisches Patentamt D-80298 München Tel. +49 89 2399 - 0 Tx: 523656 epmu d Fax: +49 89 2399 - 4465	Bevollmächtigter Bediensteter Kalsner, I Tel. Nr. +49 89 2399 8708 



I. Grundlage des Berichts

1. Hinsichtlich der **Bestandteile** der internationalen Anmeldung (*Ersatzblätter, die dem Anmeldeamt auf eine Aufforderung nach Artikel 14 hin vorgelegt wurden, gelten im Rahmen dieses Berichts als "ursprünglich eingereicht" und sind ihm nicht beigelegt, weil sie keine Änderungen enthalten (Regeln 70.16 und 70.17)*):
Beschreibung, Seiten:

1-22 ursprüngliche Fassung

Patentansprüche, Nr.:

1-11 eingegangen am 16/10/2001 mit Schreiben vom 15/10/2001

Zeichnungen, Blätter:

1/2,2/2 ursprüngliche Fassung

Sequenzprotokoll in der Beschreibung, Seiten:

1-7, in der ursprünglich eingereichten Fassung.

2. Hinsichtlich der **Sprache**: Alle vorstehend genannten Bestandteile standen der Behörde in der Sprache, in der die internationale Anmeldung eingereicht worden ist, zur Verfügung oder wurden in dieser eingereicht, sofern unter diesem Punkt nichts anderes angegeben ist.

Die Bestandteile standen der Behörde in der Sprache: zur Verfügung bzw. wurden in dieser Sprache eingereicht; dabei handelt es sich um

- ☐ die Sprache der Übersetzung, die für die Zwecke der internationalen Recherche eingereicht worden ist (nach Regel 23.1(b)).
- ☐ die Veröffentlichungssprache der internationalen Anmeldung (nach Regel 48.3(b)).
- ☐ die Sprache der Übersetzung, die für die Zwecke der internationalen vorläufigen Prüfung eingereicht worden ist (nach Regel 55.2 und/oder 55.3).

3. Hinsichtlich der in der internationalen Anmeldung offenbarten **Nucleotid- und/oder Aminosäuresequenz** ist die internationale vorläufige Prüfung auf der Grundlage des Sequenzprotokolls durchgeführt worden, das:

- ☒ in der internationalen Anmeldung in schriftlicher Form enthalten ist.
- ☒ zusammen mit der internationalen Anmeldung in computerlesbarer Form eingereicht worden ist.
- ☐ bei der Behörde nachträglich in schriftlicher Form eingereicht worden ist.
- ☐ bei der Behörde nachträglich in computerlesbarer Form eingereicht worden ist.
- ☐ Die Erklärung, daß das nachträglich eingereichte schriftliche Sequenzprotokoll nicht über den Offenbarungsgehalt der internationalen Anmeldung im Anmeldezeitpunkt hinausgeht, wurde vorgelegt.
- ☐ Die Erklärung, daß die in computerlesbarer Form erfassten Informationen dem schriftlichen



INTERNATIONALER VORLÄUFIGER PRÜFUNGSBERICHT

Internationales Aktenzeichen PCT/EP00/09594

Sequenzprotokoll entsprechen, wurde vorgelegt.

4. Aufgrund der Änderungen sind folgende Unterlagen fortgefallen:

- ☐ Beschreibung, Seiten:
- ☐ Ansprüche, Nr.:
- ☐ Zeichnungen, Blatt:

5. ☐ Dieser Bericht ist ohne Berücksichtigung (von einigen) der Änderungen erstellt worden, da diese aus den angegebenen Gründen nach Auffassung der Behörde über den Offenbarungsgehalt in der ursprünglich eingereichten Fassung hinausgehen (Regel 70.2(c)).

(Auf Ersatzblätter, die solche Änderungen enthalten, ist unter Punkt 1 hinzuweisen; sie sind diesem Bericht beizufügen).

6. Etwaige zusätzliche Bemerkungen:

V. Begründete Feststellung nach Artikel 35(2) hinsichtlich der Neuheit, der erfinderischen Tätigkeit und der gewerblichen Anwendbarkeit; Unterlagen und Erklärungen zur Stützung dieser Feststellung

1. Feststellung

Neuheit (N)	Ja: Ansprüche	1-11
	Nein: Ansprüche	
Erfinderische Tätigkeit (ET)	Ja: Ansprüche	1-11
	Nein: Ansprüche	
Gewerbliche Anwendbarkeit (GA)	Ja: Ansprüche	1-11
	Nein: Ansprüche	

2. Unterlagen und Erklärungen
siehe Beiblatt

VIII. Bestimmte Bemerkungen zur internationalen Anmeldung

Zur Klarheit der Patentansprüche, der Beschreibung und der Zeichnungen oder zu der Frage, ob die Ansprüche in vollem Umfang durch die Beschreibung gestützt werden, ist folgendes zu bemerken:
siehe Beiblatt



1) Änderungen

Die mit dem Schreiben vom 15. Oktober 2001 eingereichten Änderungen sind unter Art. 34(2)(b) PCT zulässig.

2) Neuheit und erfinderische Tätigkeit

Die vorliegende Anmeldung betrifft eine Nukleotidsequenz, die das Polycythaemia rubra vera (PRV-1) Gen kodiert, entsprechende Peptidsequenzen, Antikörper gegen PRV-1-Polypeptide sowie die medizinische Anwendung der Substanzen.

Ansprüche 1-4 beziehen sich allgemein betrachtet auf die Verwendung von PRV-1 Polynukleotid bzw Polypeptid zur Herstellung eines Arzneimittels, das als Wachstumsfaktor wirken soll.

Ansprüche 5-11 beziehen sich generell auf deren Verwendung zur Herstellung eines Arzneimittels, das hemmend auf Zellwachstum wirken soll.

Da die spezifischen Verwendungen des PRV-1 Polypeptides bzw. Polynukleotides weder im Stand der Technik beschrieben noch in offensichtlicher Weise daraus abzuleiten sind wird für **Ansprüche 1-11** Neuheit und erfinderische Tätigkeit anerkannt (Art. 33(2)(3) PCT).

Zu Abschnitt VIII: Bestimmte Bemerkungen zur internationalen Anmeldung

Ansprüche 1-11 entsprechen nicht den Erfordernissen von Art. 6 PCT:

Die Begriffe "umfassend" und "im wesentlichen" sind vage und definieren daher den Schutzzumfang der Ansprüche nicht klar.

Darüberhinaus sind auch die Begriffe "biologisch aktive Fragmente" und "biologisch aktive Variante" in den Verwendungsansprüchen des Polypeptides, bzw. die Begriffe "Fragment" und Variante" in den Verwendungsansprüchen des Polynukleotides, nicht definiert und somit unklar.



PCT/EP00/09594
Universitätsklinikum Freiburg

Patentansprüche

1. Verwendung eines N-glycosylierten Polypeptids umfassend im wesentlichen eine der folgenden Aminosäuresequenzen:

Aminosäuren 1-437 von Sequenz Nr. 2;
Aminosäuren 1-409 von Sequenz Nr. 2;
Aminosäuren 1-401 von Sequenz Nr. 2;
Aminosäuren 22-437 von Sequenz Nr. 2;
Aminosäuren 22-409 von Sequenz Nr. 2;
Aminosäuren 22-401 von Sequenz Nr. 2;

oder eines Fragments davon mit wenigstens 50 Aminosäuren oder eines Polypeptids umfassend im wesentlichen eine der folgenden Aminosäuresequenzen:

Aminosäuren 1-437 von Sequenz Nr. 2;
Aminosäuren 1-409 von Sequenz Nr. 2;
Aminosäuren 1-401 von Sequenz Nr. 2;
Aminosäuren 22-437 von Sequenz Nr. 2;
Aminosäuren 22-409 von Sequenz Nr. 2;
Aminosäuren 22-401 von Sequenz Nr. 2;

oder eines biologisch aktiven Fragments davon oder einer biologisch aktiven Variante davon zur Herstellung eines als Wachstumsfaktor wirkenden Arzneimittels.



2. Verwendung eines N-glycosylierten Polypeptids umfassend im wesentlichen eine der folgenden Aminosäuresequenzen:

Aminosäuren 1-437 von Sequenz Nr. 2;
Aminosäuren 1-409 von Sequenz Nr. 2;
Aminosäuren 1-401 von Sequenz Nr. 2;
Aminosäuren 22-437 von Sequenz Nr. 2;
Aminosäuren 22-409 von Sequenz Nr. 2;
Aminosäuren 22-401 von Sequenz Nr. 2;

oder eines Fragments davon mit wenigstens 50 Aminosäuren oder eines Polypeptids umfassend im wesentlichen eine der folgenden Aminosäuresequenzen:

Aminosäuren 1-437 von Sequenz Nr. 2;
Aminosäuren 1-409 von Sequenz Nr. 2;
Aminosäuren 1-401 von Sequenz Nr. 2;
Aminosäuren 22-437 von Sequenz Nr. 2;
Aminosäuren 22-409 von Sequenz Nr. 2;
Aminosäuren 22-401 von Sequenz Nr. 2;

oder eines biologisch aktiven Fragments davon oder einer biologisch aktiven Variante davon zur Herstellung eines Arzneimittels zur Behandlung von pan-Zytopenien und pan-Zytopathien im Knochenmark und in der Zirkulation.



3. Verwendung eines Polynucleotids umfassend im wesentlichen eine der folgenden Nucleotidsequenzen:

Nucleotide 1-1600 von Sequenz Nr. 1;
Nucleotide 36-1346 von Sequenz Nr. 1;
Nucleotide 36-1262 von Sequenz Nr. 1;
Nucleotide 36-1238 von Sequenz Nr. 1;
Nucleotide 39-1346 von Sequenz Nr. 1;
Nucleotide 39-1262 von Sequenz Nr. 1;
Nucleotide 39-1238 von Sequenz Nr. 1;
Nucleotide 99-1346 von Sequenz Nr. 1;
Nucleotide 99-1262 von Sequenz Nr. 1;
Nucleotide 99-1238 von Sequenz Nr. 1;

oder eines Fragments davon oder einer Variante davon zur Herstellung eines Arzneimittels zur Behandlung von pan-Zytopenien und pan-Zytopathien im Knochenmark und in der Zirkulation.

4. Verwendung eines N-glycosylierten Polypeptids umfassend im wesentlichen eine der folgenden Aminosäuresequenzen:

Aminosäuren 1-437 von Sequenz Nr. 2;
Aminosäuren 1-409 von Sequenz Nr. 2;
Aminosäuren 1-401 von Sequenz Nr. 2;
Aminosäuren 22-437 von Sequenz Nr. 2;
Aminosäuren 22-409 von Sequenz Nr. 2;
Aminosäuren 22-401 von Sequenz Nr. 2;

oder eines Fragments davon mit wenigstens 50 Aminosäuren oder eines Polypeptids umfassend im wesentlichen eine der folgenden Aminosäuresequenzen:

Aminosäuren 1-437 von Sequenz Nr. 2;
Aminosäuren 1-409 von Sequenz Nr. 2;
Aminosäuren 1-401 von Sequenz Nr. 2;
Aminosäuren 22-437 von Sequenz Nr. 2;
Aminosäuren 22-409 von Sequenz Nr. 2;
Aminosäuren 22-401 von Sequenz Nr. 2;



oder eines biologisch aktiven Fragments davon oder einer biologisch aktiven Variante davon zur Herstellung eines Arzneimittels zur Behandlung und/oder Vermehrung körpereigener Zellen und/oder etablierter Zelllinien ex vivo oder in vitro.

5. Verwendung eines N-glycosylierten Polypeptids umfassend im wesentlichen eine der folgenden Aminosäuresequenzen:

Aminosäuren 1-437 von Sequenz Nr. 2;
Aminosäuren 1-409 von Sequenz Nr. 2;
Aminosäuren 1-401 von Sequenz Nr. 2;
Aminosäuren 22-437 von Sequenz Nr. 2;
Aminosäuren 22-409 von Sequenz Nr. 2;
Aminosäuren 22-401 von Sequenz Nr. 2;

oder eines Fragments davon mit wenigstens 50 Aminosäuren oder eines Polypeptids umfassend im wesentlichen eine der folgenden Aminosäuresequenzen:

Aminosäuren 1-437 von Sequenz Nr. 2;
Aminosäuren 1-409 von Sequenz Nr. 2;
Aminosäuren 1-401 von Sequenz Nr. 2;
Aminosäuren 22-437 von Sequenz Nr. 2;
Aminosäuren 22-409 von Sequenz Nr. 2;
Aminosäuren 22-401 von Sequenz Nr. 2;

oder eines biologisch aktiven Fragments davon oder einer biologisch aktiven Variante davon zur Herstellung eines Arzneimittels zur Hemmung des Wachstums von Zellen.

6. Verwendung nach Anspruch 5, dadurch gekennzeichnet, daß das Polypeptid als Zytostatikum verwendet wird.



7. Verwendung eines N-glycosylierten Polypeptids umfassend im wesentlichen eine der folgenden Aminosäuresequenzen:

Aminosäuren 1-437 von Sequenz Nr. 2;
Aminosäuren 1-409 von Sequenz Nr. 2;
Aminosäuren 1-401 von Sequenz Nr. 2;
Aminosäuren 22-437 von Sequenz Nr. 2;
Aminosäuren 22-409 von Sequenz Nr. 2;
Aminosäuren 22-401 von Sequenz Nr. 2;

oder eines Fragments davon mit wenigstens 50 Aminosäuren oder eines Polypeptids umfassend im wesentlichen eine der folgenden Aminosäuresequenzen:

Aminosäuren 1-437 von Sequenz Nr. 2;
Aminosäuren 1-409 von Sequenz Nr. 2;
Aminosäuren 1-401 von Sequenz Nr. 2;
Aminosäuren 22-437 von Sequenz Nr. 2;
Aminosäuren 22-409 von Sequenz Nr. 2;
Aminosäuren 22-401 von Sequenz Nr. 2;

oder eines biologisch aktiven Fragments davon oder einer biologisch aktiven Variante davon zur Herstellung eines Arzneimittels zur Behandlung proliferativer Erkrankungen.



8. Verwendung nach Anspruch 7, dadurch gekennzeichnet, daß die proliferative Erkrankung ausgewählt ist aus der Gruppe umfassend myeloproliferative Erkrankungen, P. vera, Essentielle Thrombozythämie, Myelofibrose, CML, sämtliche Leukämien und Lymphome sowie solide Tumoren.
9. Verwendung eines Polynucleotids umfassend im wesentlichen eine der folgenden Nucleotidsequenzen:
- Nucleotide 1-1600 von Sequenz Nr. 1;
 - Nucleotide 36-1346 von Sequenz Nr. 1;
 - Nucleotide 36-1262 von Sequenz Nr. 1;
 - Nucleotide 36-1238 von Sequenz Nr. 1;
 - Nucleotide 39-1346 von Sequenz Nr. 1;
 - Nucleotide 39-1262 von Sequenz Nr. 1;
 - Nucleotide 39-1238 von Sequenz Nr. 1;
 - Nucleotide 99-1346 von Sequenz Nr. 1;
 - Nucleotide 99-1262 von Sequenz Nr. 1;
 - Nucleotide 99-1238 von Sequenz Nr. 1;
- oder eines Fragments davon oder einer Variante davon zur Hemmung des Wachstums von Zellen.
10. Verwendung eines Polynucleotids umfassend im wesentlichen eine der folgenden Nucleotidsequenzen:
- Nucleotide 1-1600 von Sequenz Nr. 1;
 - Nucleotide 36-1346 von Sequenz Nr. 1;
 - Nucleotide 36-1262 von Sequenz Nr. 1;
 - Nucleotide 36-1238 von Sequenz Nr. 1;
 - Nucleotide 39-1346 von Sequenz Nr. 1;
 - Nucleotide 39-1262 von Sequenz Nr. 1;
 - Nucleotide 39-1238 von Sequenz Nr. 1;
 - Nucleotide 99-1346 von Sequenz Nr. 1;
 - Nucleotide 99-1262 von Sequenz Nr. 1;
 - Nucleotide 99-1238 von Sequenz Nr. 1;



oder eines Fragments davon oder einer Variante davon zur Herstellung eines Arzneimittels zur Behandlung proliferativer Erkrankungen.

11. Verwendung nach Anspruch 10, dadurch gekennzeichnet, daß die proliferative Erkrankung ausgewählt ist aus der Gruppe umfassend myeloproliferative Erkrankungen, P. vera, Essentielle Thrombozythämie, Myelofibrose, CML, sämtliche Leukämien und Lymphome sowie solide Tumoren.



VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES PATENTWESENS

Absender: INTERNATIONALE RECHERCHENBEHÖRDE

PCT

An

LEDERER, KELLER & RIEDERER
Prinzregentenstr. 16
80538 München
GERMANY

MITTEILUNG ÜBER DIE ÜBERMITTLUNG DES
INTERNATIONALEN RECHERCHENBERICHTS
ODER DER ERKLÄRUNG

(Regel 44.1 PCT)

<p>Aktenzeichen des Anmelders oder Anwalts</p>	<p>Absenddatum (Tag/Monat/Jahr) 23/02/2001</p>
<p>Internationales Aktenzeichen PCT/EP 00/ 09594</p>	<p>Internationales Anmeldedatum (Tag/Monat/Jahr) 29/09/2000</p>
<p>Anmelder UNIVERSITÄTSKLINIKUM FREIBURG</p>	

1. ☒ Dem Anmelder wird mitgeteilt, daß der internationale Recherchenbericht erstellt wurde und ihm hiermit übermittelt wird.
Einreichung von Änderungen und einer Erklärung nach Artikel 19:
 Der Anmelder kann auf eigenen Wunsch die Ansprüche der internationalen Anmeldung ändern (siehe Regel 46):

Bis wann sind Änderungen einzureichen?
 Die Frist zur Einreichung solcher Änderungen beträgt üblicherweise zwei Monate ab der Übermittlung des internationalen Recherchenberichts; weitere Einzelheiten sind den Anmerkungen auf dem Beiblatt zu entnehmen.

Wo sind Änderungen einzureichen?
 Unmittelbar beim Internationalen Büro der WIPO, 34, CHEMIN des Colombettes, CH-1211 Genf 20,
 Telefaxnr.: (41-22) 740.14.35

Nähere Hinweise sind den Anmerkungen auf dem Beiblatt zu entnehmen.
2. ☐ Dem Anmelder wird mitgeteilt, daß kein internationaler Recherchenbericht erstellt wird und daß ihm hiermit die Erklärung nach Artikel 17(2)a) übermittelt wird.
3. ☐ **Hinsichtlich des Widerspruchs** gegen die Entrichtung einer zusätzlichen Gebühr (zusätzlicher Gebühren) nach Regel 40.2 wird dem Anmelder mitgeteilt, daß

☐ der Widerspruch und die Entscheidung hierüber zusammen mit seinem Antrag auf Übermittlung des Wortlauts sowohl des Widerspruchs als auch der Entscheidung hierüber an die Bestimmungsämter dem Internationalen Büro übermittelt worden sind.

☐ noch keine Entscheidung über den Widerspruch vorliegt; der Anmelder wird benachrichtigt, sobald eine Entscheidung getroffen wurde.
4. **Weiteres Vorgehen:** Der Anmelder wird auf folgendes aufmerksam gemacht:
 Kurz nach Ablauf von **18 Monaten** seit dem Prioritätsdatum wird die internationale Anmeldung vom Internationalen Büro veröffentlicht. Will der Anmelder die Veröffentlichung verhindern oder auf einen späteren Zeitpunkt verschieben, so muß gemäß Regel 90 bis bzw. 90^{bis}3 vor Abschluß der technischen Vorbereitungen für die internationale Veröffentlichung eine Erklärung über die Zurücknahme der internationalen Anmeldung oder des Prioritätsanspruchs beim Internationalen Büro eingehen.

 Innerhalb von **19 Monaten** seit dem Prioritätsdatum ist ein Antrag auf internationale vorläufige Prüfung einzureichen, wenn der Anmelder den Eintritt in die nationale Phase bis zu 30 Monaten seit dem Prioritätsdatum (in manchen Ämtern sogar noch länger) verschieben möchte.

 Innerhalb von **20 Monaten** seit dem Prioritätsdatum muß der Anmelder die für den Eintritt in die nationale Phase vorgeschriebenen Handlungen vor allen Bestimmungsämtern vornehmen, die nicht innerhalb von 19 Monaten seit dem Prioritätsdatum in der Anmeldung oder einer nachträglichen Auswählerklärung ausgewählt wurden oder nicht ausgewählt werden konnten, da für sie Kapitel II des Vertrages nicht verbindlich ist.

Name und Postanschrift der Internationalen Recherchenbehörde



Europäisches Patentamt, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL-2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
Fax: (+31-70) 340-3016

Bevollmächtigter Bediensteter

Andria Overbeeke-Siepkens



ANMERKUNGEN ZU FORMBLATT PCT/ISA

Diese Anmerkungen sollen grundlegende Hinweise zur Einreichung von Änderungen gemäß Artikel 19 geben. Diesen Anmerkungen liegen die Erfordernisse des Vertrags über die internationale Zusammenarbeit auf dem Gebiet des Patentwesens (PCT), der Ausführungsordnung und der Verwaltungsrichtlinien zu diesem Vertrag zugrunde. Bei Abweichungen zwischen diesen Anmerkungen und obengenannten Texten sind letztere maßgebend. Nähere Einzelheiten sind dem PCT-Leitfaden für Anmelder, einer Veröffentlichung der WIPO, zu entnehmen.

Die in diesen Anmerkungen verwendeten Begriffe "Artikel", "Regel" und "Abschnitt" beziehen sich jeweils auf die Bestimmungen des PCT-Vertrags, der PCT-Ausführungsordnung bzw. der PCT-Verwaltungsrichtlinien.

HINWEISE ZU ÄNDERUNGEN GEMÄSS ARTIKEL 19

Nach Erhalt des internationalen Recherchenberichts hat der Anmelder die Möglichkeit, einmal die Ansprüche der internationalen Anmeldung zu ändern. Es ist jedoch zu betonen, daß, da alle Teile der internationalen Anmeldung (Ansprüche, Beschreibung und Zeichnungen) während des internationalen vorläufigen Prüfungsverfahrens geändert werden können, normalerweise keine Notwendigkeit besteht, Änderungen der Ansprüche nach Artikel 19 einzureichen, außer wenn der Anmelder z.B. zum Zwecke eines vorläufigen Schutzes die Veröffentlichung dieser Ansprüche wünscht oder ein anderer Grund für eine Änderung der Ansprüche vor ihrer internationalen Veröffentlichung vorliegt. Weiterhin ist zu beachten, daß ein vorläufiger Schutz nur in einigen Staaten erhältlich ist.

Welche Teile der internationalen Anmeldung können geändert werden?

Im Rahmen von Artikel 19 können nur die Ansprüche geändert werden.

In der internationalen Phase können die Ansprüche auch nach Artikel 34 vor der mit der internationalen vorläufigen Prüfung beauftragten Behörde geändert (oder nochmals geändert) werden. Die Beschreibung und die Zeichnungen können nur nach Artikel 34 vor der mit der internationalen vorläufigen Prüfung beauftragten Behörde geändert werden.

Beim Eintritt in die nationale Phase können alle Teile der internationalen Anmeldung nach Artikel 28 oder gegebenenfalls Artikel 41 geändert werden.

Bis wann sind Änderungen einzureichen?

Innerhalb von zwei Monaten ab der Übermittlung des internationalen Recherchenberichts oder innerhalb von sechzehn Monaten ab dem Prioritätsdatum, je nachdem, welche Frist später abläuft. Die Änderungen gelten jedoch als rechtzeitig eingereicht, wenn sie dem internationalen Büro nach Ablauf der maßgebenden Frist, aber noch vor Abschluß der technischen Vorbereitungen für die internationale Veröffentlichung (Regel 46.1) zugehen.

Wo sind die Änderungen nicht einzureichen?

Die Änderungen können nur beim internationalen Büro, nicht aber beim Anmeldeamt oder der internationalen Recherchenbehörde eingereicht werden (Regel 46.2).

Falls ein Antrag auf internationale vorläufige Prüfung eingereicht wurde/wird, siehe unten.

In welcher Form können Änderungen erfolgen?

Eine Änderung kann erfolgen durch Streichung eines oder mehrerer ganzer Ansprüche, durch Hinzufügung eines oder mehrerer neuer Ansprüche oder durch Änderung des Wortlauts eines oder mehrerer Ansprüche in der eingereichten Fassung.

Für jedes Anspruchsblatt, das sich aufgrund einer oder mehrerer Änderungen von dem ursprünglich eingereichten Blatt unterscheidet, ist ein Ersatzblatt einzureichen.

Alle Ansprüche, die auf einem Ersatzblatt erscheinen, sind mit arabischen Ziffern zu numerieren. Wird ein Anspruch gestrichen, so brauchen, die anderen Ansprüche nicht neu numeriert zu werden. Im Fall einer Neunummerierung sind die Ansprüche fortlaufend zu numerieren (Verwaltungsrichtlinien, Abschnitt 205 b)).

Die Änderungen sind in der Sprache abzufassen, in der die internationale Anmeldung veröffentlicht wird.

Welche Unterlagen sind den Änderungen beizufügen?

Begleitschreiben (Abschnitt 205 b)):

Die Änderungen sind mit einem Begleitschreiben einzureichen.

Das Begleitschreiben wird nicht zusammen mit der internationalen Anmeldung und den geänderten Ansprüchen veröffentlicht. Es ist nicht zu verwechseln mit der "Erklärung nach Artikel 19(1)" (siehe unten, "Erklärung nach Artikel 19 (1)").

Das Begleitschreiben ist nach Wahl des Anmelders in englischer oder französischer Sprache abzufassen. Bei englischsprachigen internationalen Anmeldungen ist das Begleitschreiben aber ebenfalls in englischer, bei französischsprachigen internationalen Anmeldungen in französischer Sprache abzufassen.



ANMERKUNGEN ZU FORMBLATT PCT/ISA/220 (Übersetzung)

Im Begleitschreiben sind die Unterschiede zwischen den Ansprüchen in der eingereichten Fassung und den geänderten Ansprüchen anzugeben. So ist insbesondere zu jedem Anspruch in der internationalen Anmeldung anzugeben (gleichlautende Angaben zu verschiedenen Ansprüchen können zusammengefaßt werden), ob

- i) der Anspruch unverändert ist;
- ii) der Anspruch gestrichen worden ist;
- iii) der Anspruch neu ist;
- iv) der Anspruch einen oder mehrere Ansprüche in der eingereichten Fassung ersetzt;
- v) der Anspruch auf die Teilung eines Anspruchs in der eingereichten Fassung zurückzuführen ist.

Im folgenden sind Beispiele angegeben, wie Änderungen im Begleitschreiben zu erläutern sind:

1. [Wenn anstelle von ursprünglich 48 Ansprüchen nach der Änderung einiger Ansprüche 51 Ansprüche existieren]:
"Die Ansprüche 1 bis 29, 31, 32, 34, 35, 37 bis 48 werden durch geänderte Ansprüche gleicher Numerierung ersetzt; Ansprüche 30, 33 und 36 unverändert; neue Ansprüche 49 bis 51 hinzugefügt."
2. [Wenn anstelle von ursprünglich 15 Ansprüchen nach der Änderung aller Ansprüche 11 Ansprüche existieren]:
"Geänderte Ansprüche 1 bis 11 treten an die Stelle der Ansprüche 1 bis 15."
3. [Wenn ursprünglich 14 Ansprüche existierten und die Änderungen darin bestehen, daß einige Ansprüche gestrichen werden und neue Ansprüche hinzugefügt werden]:
"Ansprüche 1 bis 6 und 14 unverändert; Ansprüche 7 bis 13 gestrichen; neue Ansprüche 15, 16 und 17 hinzugefügt. "Oder" Ansprüche 7 bis 13 gestrichen; neue Ansprüche 15, 16 und 17 hinzugefügt; alle übrigen Ansprüche unverändert."
4. [Wenn verschiedene Arten von Änderungen durchgeführt werden]:
"Ansprüche 1-10 unverändert; Ansprüche 11 bis 13, 18 und 19 gestrichen; Ansprüche 14, 15 und 16 durch geänderten Anspruch 14 ersetzt; Anspruch 17 in geänderte Ansprüche 15, 16 und 17 unterteilt; neue Ansprüche 20 und 21 hinzugefügt."

"Erklärung nach Artikel 19(1)" (Regel 46.4)

Den Änderungen kann eine Erklärung beigelegt werden, mit der die Änderungen erläutert und ihre Auswirkungen auf die Beschreibung und die Zeichnungen dargelegt werden (die nicht nach Artikel 19 (1) geändert werden können).

Die Erklärung wird zusammen mit der internationalen Anmeldung und den geänderten Ansprüchen veröffentlicht.

Sie ist in der Sprache abzufassen, in der die internationale Anmeldung veröffentlicht wird.

Sie muß kurz gehalten sein und darf, wenn in englischer Sprache abgefaßt oder ins Englische übersetzt, nicht mehr als 500 Wörter umfassen.

Die Erklärung ist nicht zu verwechseln mit dem Begleitschreiben, das auf die Unterschiede zwischen den Ansprüchen in der eingereichten Fassung und den geänderten Ansprüchen hinweist, und ersetzt letzteres nicht. Sie ist auf einem gesonderten Blatt einzureichen und in der Überschrift als solche zu kennzeichnen, vorzugsweise mit den Worten "Erklärung nach Artikel 19 (1)".

Die Erklärung darf keine herabsetzenden Äußerungen über den internationalen Recherchenbericht oder die Bedeutung von in dem Bericht angeführten Veröffentlichungen enthalten. Sie darf auf im internationalen Recherchenbericht angeführte Veröffentlichungen, die sich auf einen bestimmten Anspruch beziehen, nur im Zusammenhang mit einer Änderung dieses Anspruchs Bezug nehmen.

Auswirkungen eines bereits gestellten Antrags auf internationale vorläufige Prüfung

Ist zum Zeitpunkt der Einreichung von Änderungen nach Artikel 19 bereits ein Antrag auf internationale vorläufige Prüfung gestellt worden, so sollte der Anmelder in seinem Interesse gleichzeitig mit der Einreichung der Änderungen beim Internationalen Büro auch eine Kopie der Änderungen bei der mit der internationalen vorläufigen Prüfung beauftragten Behörde einreichen (siehe Regel 62.2 a), erster Satz).

Auswirkungen von Änderungen hinsichtlich der Übersetzung der internationalen Anmeldung beim Eintritt in die nationale Phase

Der Anmelder wird darauf hingewiesen, daß bei Eintritt in die nationale Phase möglicherweise anstatt oder zusätzlich zu der Übersetzung der Ansprüche in der eingereichten Fassung eine Übersetzung der nach Artikel 19 geänderten Ansprüche an die bestimmten/ausgewählten Ämter zu übermitteln ist.

Nähere Einzelheiten über die Erfordernisse jedes bestimmten/ausgewählten Amtes sind Band II des PCT-Leitfadens für Anmelder zu entnehmen.



VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT
AUF DEM GEBIET DES PATENTWESENS

PCT

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

(Artikel 18 sowie Regeln 43 und 44 PCT)

Aktenzeichen des Anmelders oder Anwalts	WEITERES VORGEHEN	siehe Mitteilung über die Übermittlung des internationalen Recherchenberichts (Formblatt PCT/ISA/220) sowie, soweit zutreffend, nachstehender Punkt 5
Internationales Aktenzeichen PCT/EP 00/ 09594	Internationales Anmeldedatum (Tag/Monat/Jahr) 29/09/2000	(Frühestes) Prioritätsdatum (Tag/Monat/Jahr) 30/09/1999
Anmelder UNIVERSITÄTSKLINIKUM FREIBURG		

Dieser internationale Recherchenbericht wurde von der Internationalen Recherchenbehörde erstellt und wird dem Anmelder gemäß Artikel 18 übermittelt. Eine Kopie wird dem Internationalen Büro übermittelt.

Dieser internationale Recherchenbericht umfaßt insgesamt 4 Blätter.

☒ Darüber hinaus liegt ihm jeweils eine Kopie der in diesem Bericht genannten Unterlagen zum Stand der Technik bei.

1. Grundlage des Berichts

- a. Hinsichtlich der **Sprache** ist die internationale Recherche auf der Grundlage der internationalen Anmeldung in der Sprache durchgeführt worden, in der sie eingereicht wurde, sofern unter diesem Punkt nichts anderes angegeben ist.

☐ Die internationale Recherche ist auf der Grundlage einer bei der Behörde eingereichten Übersetzung der internationalen Anmeldung (Regel 23.1 b)) durchgeführt worden.

- b. Hinsichtlich der in der internationalen Anmeldung offenbarten **Nucleotid- und/oder Aminosäuresequenz** ist die internationale Recherche auf der Grundlage des Sequenzprotokolls durchgeführt worden, das

☒ in der internationalen Anmeldung in schriftlicher Form enthalten ist.

☒ zusammen mit der internationalen Anmeldung in computerlesbarer Form eingereicht worden ist.

☐ bei der Behörde nachträglich in schriftlicher Form eingereicht worden ist.

☐ bei der Behörde nachträglich in computerlesbarer Form eingereicht worden ist.

☐ Die Erklärung, daß das nachträglich eingereichte schriftliche Sequenzprotokoll nicht über den Offenbarungsgehalt der internationalen Anmeldung im Anmeldezeitpunkt hinausgeht, wurde vorgelegt.

☐ Die Erklärung, daß die in computerlesbarer Form erfaßten Informationen dem schriftlichen Sequenzprotokoll entsprechen, wurde vorgelegt.

2. ☒ Bestimmte Ansprüche haben sich als nicht recherchierbar erwiesen (siehe Feld I).

3. ☐ Mangelnde Einheitlichkeit der Erfindung (siehe Feld II).

4. Hinsichtlich der **Bezeichnung der Erfindung**

☒ wird der vom Anmelder eingereichte Wortlaut genehmigt.

☐ wurde der Wortlaut von der Behörde wie folgt festgesetzt:

5. Hinsichtlich der **Zusammenfassung**

☒ wird der vom Anmelder eingereichte Wortlaut genehmigt.

☐ wurde der Wortlaut nach Regel 38.2b) in der in Feld III angegebenen Fassung von der Behörde festgesetzt. Der Anmelder kann der Behörde innerhalb eines Monats nach dem Datum der Absendung dieses internationalen Recherchenberichts eine Stellungnahme vorlegen.

6. Folgende Abbildung der **Zeichnungen** ist mit der Zusammenfassung zu veröffentlichen: Abb. Nr. _____

☐ wie vom Anmelder vorgeschlagen

☐ weil der Anmelder selbst keine Abbildung vorgeschlagen hat.

☐ weil diese Abbildung die Erfindung besser kennzeichnet.

☒ keine der Abb.



INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Internationales Aktenzeichen

PCT/EP 00/09594

A. KLASSIFIZIERUNG DES ANMELDUNGSGEGENSTANDES

IPK 7 C12N15/12 C12N15/11 C07K14/475 C07K16/22 G01N33/68
G01N33/577 C12Q1/68 A61K31/713 A61K38/18

Nach der Internationalen Patentklassifikation (IPK) oder nach der nationalen Klassifikation und der IPK

B. RECHERCHIERTE GEBIETE

Recherchierter Mindestprüfstoff (Klassifikationssystem und Klassifikationssymbole)

IPK 7 C12N C07K G01N C12Q A61K

Recherchierte aber nicht zum Mindestprüfstoff gehörende Veröffentlichungen, soweit diese unter die recherchierten Gebiete fallen

Während der internationalen Recherche konsultierte elektronische Datenbank (Name der Datenbank und evtl. verwendete Suchbegriffe)

STRAND, EPO-Internal, WPI Data, BIOSIS

C. ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
X	<p>TEMERINAC S ET AL: "CLONING OF PRV-1, A NOVEL MEMBER OF THE UPAR RECEPTOR SUPERFAMILY WHICH IS OVEREXPRESSED IN POLYCYTHEMIA VERA" BLOOD,US,W.B. SAUNDERS, PHILADELPHIA, VA, Bd. 92, Nr. 10, SUPPL. 01, 15. November 1998 (1998-11-15), Seiten 426A-Abstr1760, XP000867771 ISSN: 0006-4971 Zusammenfassung</p> <p style="text-align: center;">---</p>	1-9, 13, 21-24
X	<p>WO 98 50552 A (ZYMOGENETICS INC) 12. November 1998 (1998-11-12) in der Anmeldung erwähnt Seite 81 -Seite 84; Anspruch 16</p> <p style="text-align: center;">---</p> <p style="text-align: center;">-/--</p>	1-9

☒ Weitere Veröffentlichungen sind der Fortsetzung von Feld C zu entnehmen

☒ Siehe Anhang Patentfamilie

* Besondere Kategorien von angegebenen Veröffentlichungen :

A Veröffentlichung, die den allgemeinen Stand der Technik definiert, aber nicht als besonders bedeutsam anzusehen ist

E älteres Dokument, das jedoch erst am oder nach dem internationalen Anmeldedatum veröffentlicht worden ist

L Veröffentlichung, die geeignet ist, einen Prioritätsanspruch zweifelhaft erscheinen zu lassen, oder durch die das Veröffentlichungsdatum einer anderen im Recherchenbericht genannten Veröffentlichung belegt werden soll oder die aus einem anderen besonderen Grund angegeben ist (wie ausgeführt)

O Veröffentlichung, die sich auf eine mündliche Offenbarung, eine Benutzung, eine Ausstellung oder andere Maßnahmen bezieht

P Veröffentlichung, die vor dem internationalen Anmeldedatum, aber nach dem beanspruchten Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist

T Spätere Veröffentlichung, die nach dem internationalen Anmeldedatum oder dem Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist und mit der Anmeldung nicht kollidiert, sondern nur zum Verständnis des der Erfindung zugrundeliegenden Prinzips oder der ihr zugrundeliegenden Theorie angegeben ist

X Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann allein aufgrund dieser Veröffentlichung nicht als neu oder auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden

Y Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann nicht als auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden, wenn die Veröffentlichung mit einer oder mehreren anderen Veröffentlichungen dieser Kategorie in Verbindung gebracht wird und diese Verbindung für einen Fachmann naheliegend ist

G Veröffentlichung, die Mitglied derselben Patentfamilie ist

Datum des Abschlusses der internationalen Recherche

13. Februar 2001

Absendedatum des internationalen Recherchenberichts

23/02/2001

Name und Postanschrift der Internationalen Recherchenbehörde
Europäisches Patentamt, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
Fax: (+31-70) 340-3016

Bevollmächtigter Bediensteter

Blanco Urgoiti, B



C.(Fortsetzung) ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie°	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
P,X, L	WO 00 24886 A (PAHL HEIKE ; UNIVERSITAETSKLINIKUM FREIBURG (DE)) 4. Mai 2000 (2000-05-04) das ganze Dokument (L: Prioritet) ---	1-13, 21-24
P,X	WO 99 63088 A (BAKER KEVIN ; CHEN JIAN (US); GENENTECH INC (US); YUAN JEAN (US); G) 9. Dezember 1999 (1999-12-09) Abbildungen 249,250 ---	1-4,8,9
P,X	WO 00 36102 A (FERRARA NAPOLEONE ; STEWART TIMOTHY A (US); DESNOYERS LUC (US); GAO) 22. Juni 2000 (2000-06-22) Anspruch 2; Abbildung 10 ---	1-4,8,9
P,X	TEMERINAC SNEZANA ET AL: "Cloning of PRV-1, a novel member of the uPAR receptor superfamily, which is overexpressed in polycythemia rubra vera." BLOOD, Bd. 95, Nr. 8, 15. April 2000 (2000-04-15), Seiten 2569-2576, XP002159981 ISSN: 0006-4971 das ganze Dokument -----	1-9,13, 21-24



Feld I Bemerkungen zu den Ansprüchen, die sich als nicht recherchierbar erwiesen haben (Fortsetzung von Punkt 2 auf Blatt 1)

Gemäß Artikel 17(2)a) wurde aus folgenden Gründen für bestimmte Ansprüche kein Recherchenbericht erstellt:

1. ☒ Ansprüche Nr.
weil sie sich auf Gegenstände beziehen, zu deren Recherche die Behörde nicht verpflichtet ist, nämlich
Obwohl die Ansprüche 10,14,15 und 18 (in soweit es in vivo Methoden betrifft) sich auf ein Verfahren zur Behandlung des menschlichen/tierischen Körpers beziehen, wurde die Recherche durchgeführt und gründete sich auf die angeführten Wirkungen der Verbindung/Zusammensetzung.
2. ☐ Ansprüche Nr.
weil sie sich auf Teile der internationalen Anmeldung beziehen, die den vorgeschriebenen Anforderungen so wenig entsprechen, daß eine sinnvolle internationale Recherche nicht durchgeführt werden kann, nämlich
3. ☐ Ansprüche Nr.
weil es sich dabei um abhängige Ansprüche handelt, die nicht entsprechend Satz 2 und 3 der Regel 6.4 a) abgefaßt sind.

Feld II Bemerkungen bei mangelnder Einheitlichkeit der Erfindung (Fortsetzung von Punkt 3 auf Blatt 1)

Die internationale Recherchenbehörde hat festgestellt, daß diese internationale Anmeldung mehrere Erfindungen enthält:

1. ☐ Da der Anmelder alle erforderlichen zusätzlichen Recherchegebühren rechtzeitig entrichtet hat, erstreckt sich dieser internationale Recherchenbericht auf alle recherchierbaren Ansprüche.
2. ☐ Da für alle recherchierbaren Ansprüche die Recherche ohne einen Arbeitsaufwand durchgeführt werden konnte, der eine zusätzliche Recherchegebühr gerechtfertigt hätte, hat die Behörde nicht zur Zahlung einer solchen Gebühr aufgefordert.
3. ☐ Da der Anmelder nur einige der erforderlichen zusätzlichen Recherchegebühren rechtzeitig entrichtet hat, erstreckt sich dieser internationale Recherchenbericht nur auf die Ansprüche, für die Gebühren entrichtet worden sind, nämlich auf die Ansprüche Nr.
4. ☐ Der Anmelder hat die erforderlichen zusätzlichen Recherchegebühren nicht rechtzeitig entrichtet. Der internationale Recherchenbericht beschränkt sich daher auf die in den Ansprüchen zuerst erwähnte Erfindung; diese ist in folgenden Ansprüchen erfaßt:

Bemerkungen hinsichtlich eines Widerspruchs

☐ Die zusätzlichen Gebühren wurden vom Anmelder unter Widerspruch gezahlt.

☐ Die Zahlung zusätzlicher Recherchegebühren erfolgte ohne Widerspruch.



INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Angaben zu Veröffentlichungen, die zur selben Patentfamilie gehören

Internationales Aktenzeichen

PCT/EP 00/09594

Im Recherchenbericht angeführtes Patentdokument		Datum der Veröffentlichung	Mitglied(er) der Patentfamilie		Datum der Veröffentlichung
WO 9850552	A	12-11-1998	AU	7480198 A	27-11-1998
			EP	0991757 A	12-04-2000
WO 0024886	A	04-05-2000	DE	19849044 A	27-04-2000
			AU	6088399 A	15-05-2000
WO 9963088	A	09-12-1999	AU	4328699 A	20-12-1999
			AU	2212299 A	26-07-1999
			WO	9935170 A	15-07-1999
WO 0036102	A	22-06-2000	AU	1932000 A	03-07-2000
			AU	1748200 A	19-06-2000
			AU	2192800 A	12-07-2000
			AU	2495200 A	28-09-2000
			AU	2600800 A	28-09-2000
			AU	3381600 A	28-09-2000
			AU	3514400 A	28-09-2000
			AU	4328699 A	20-12-1999
			WO	0053753 A	14-09-2000
			WO	0053755 A	14-09-2000
			WO	0075327 A	14-12-2000
			WO	0053757 A	14-09-2000
			WO	0053758 A	14-09-2000
			WO	0073454 A	07-12-2000
			WO	0073445 A	07-12-2000
			WO	0073348 A	07-12-2000
			WO	0073452 A	07-12-2000
			WO	0032221 A	08-06-2000
			WO	0037640 A	29-06-2000
			WO	0075316 A	14-12-2000

